Aus der Abteilung Laboratoriumsdiagnostik
der Stoffwechsel- und Hormonkrankheiten
Direktor: Professor Dr. D. Gupta, F. R. C. Path.
der Kinderklinik der Universität Tübingen

Periphere Hormone und ihre Beziehung zum Wachstum bei der weiblichen Wistar-Ratte

– Eine querschnittliche Studie –

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde
der Medizinischen Fakultät
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von
Hans-Joachim Kleber
aus Eisleben

1983

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543922_0057

Aus der Abteilung Laboratoriumsdiagnostik
der Stoffwechsel- und Hormonkrankheiten
Direktor: Professor Dr. D. Gupta, F. R. C. Path.
der Kinderklinik der Universität Tübingen

Periphere Hormone und ihre Beziehung zum Wachstum bei der weiblichen Wistar-Ratte

– Eine querschnittliche Studie –

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde
der Medizinischen Fakultät
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von
Hans-Joachim Kleber
aus Eisleben

1983

Dekan:	Professor Dr. W. Frommhold
1. Berichterstatter:	Privatdozent Dr. M. B. Ranke
2. Berichterstatter:	Professor Dr. D. Gupta

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

REFO-DRUCK HANS VOGLER TÜBINGEN

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite:
1.	Einleitung und Fragestellung	1
2.	Material und Methoden	4
2.1.	Versuchstiere	4
2.2.	Blutabnahme	4
2.3.	Messungen	6
2.3.1.	Längenmessung	6
2.3.2.	Gewichtsmessung	6
2.3.3.	Wachstumsgeschwindigkeit	6
2.3.4.	Somatomedin im Plasma	7
2.3.5.	Wachstumshormon im Plasma	9
2.3.6.	Insulin im Plasma	11
2.3.7.	Dehydroepiandrosteron im Plasma	12
2.3.8.	Testosteron im Plasma	14
2.3.9.	Östradiol im Plasma	15
2.3.10.	Prolaktin im Plasma	20
2.4.	Berechnung	22
2.4.1.	Berechnung der Somatomedinkonz.	22
2.4.2.	Berechnung der GH-, Insulin-, DHEA-, Testosteron-, Östradiol- und Prolaktinkonzentrationen	22
3.	Ergebnisse	24
3.1.	Wachstum und Wachstumsgeschwindigkeit	24
3.2.	Somatomedin	29
3.3.	Wachstumshormon	31
3.4.	Insulin	32
3.5.	Dehydroepiandrosteron	33
3.6.	Testosteron	34
3.7.	Östradiol	35
3.8.	Prolaktin	37
4.	Diskussion	40
5.	Zusammenfassung	57
6.	Tabellarischer Anhang	59
7.	Literaturverzeichnis	65

1. Einleitung und Fragestellung

Werden, Entwicklung und Bestand menschlichen Lebens unterliegen einer ständigen, vielfältig verknüpften Regulation und Kontrolle durch das neuronale und humorale Steuerungssystem unseres Körpers.
Zwar sind beide Systeme sowohl durch anatomisch-morphologische Organstrukturen als auch durch die chemische Verwandtschaft bzw. Identität einzelner Botenstoffe besonders auf der Ebene des Zentralnervensystems unlösbar miteinander korrelliert, doch lassen sich andererseits bestimmte, vorrangig periphere Funktionen und Vorgänge eindeutig dem Aufgabenbereich eines dieser Regulationssysteme zuordnen.
Schon zu Beginn endokrinologischer Forschung wurden drei Kardinalaufgaben hormoneller Funktion im menschlichen Organismus festgestellt: a)die Steuerung der körperlichen, sexuellen und geistigen Entwicklung, b)die Leistungsanpassung unter veränderten Parametern und c)die homöostatische Funktion mit dem Ziel der Konstanz lebenswichtiger physiologischer Größen.
Jedem dieser Punkte waren intensive Forschungen gewidmet, die durch verbesserte und verfeinerte Bestimmungs- bzw. Untersuchungsmethoden gerade in den vergangenen Jahren einen enormen Erkenntniszuwachs bewirkten.
Ratten sind im Rahmen dieser Arbeiten, soweit sich entsprechende Untersuchungen am Menschen aus ethischen Gründen verbieten, ob des Modellcharakters ihrer sexuellen Entwicklung, deren hormoneller Regulation und der nachgewiesenen deutlichen Parallelen zu entsprechenden Vorgängen beim Menschen im Zusammenhang mit zahllosen Fragen ihrer wie menschlicher Physiologie bevorzugt untersucht worden.
Eine Durchsicht entsprechender Literatur zeigt, daß vor allem die Steuerung der sexuellen Entwicklung und Reifung unter dem Einfluß von Gonadotropinen und Sexualsteroiden, das Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-System und seine komplexen, die sexuelle Reifung einleitenden

Veränderungen sowie das Wachstum in der Pubertätsphase unter dem Einfluß von GH und Somatomedin Gegenstand endokrinologischer Forschung waren.
Konnten so zwar zahlreiche Aspekte hinlänglich geklärt werden, so wurde doch auch zunehmend deutlicher, daß hormonelle Parameter über eine Vielzahl teils hierarchisch, teils gleichberechtigt miteinander verschalteter Regelsysteme gesteuert werden und peripher zum Teil sehr verschiedene, über die noch vor wenigen Jahren genannten "klassischen" Funktionen hinausgehende Wirkungen zeitigen. Dies wird wohl nirgends so deutlich wie an Hand der komplexen Entwicklung von Ratte und Mensch vom juvenilen zum adulten Lebewesen.
Um so mehr verwundert es deshalb, daß in der Literatur kaum Arbeiten zu finden sind, die der oben genannten Komplexität hormoneller Funktionen im Rahmen der Entwicklung durch longitudinale bzw. querschnittliche, die wichtigsten Sexual- und wachstumssteuernden Hormone erfassenden Studien Rechnung tragen.
Mit der vorliegenden Arbeit soll dies erstmals für weibliche Albino-Wistar-Ratten zwischen ihrem 15. und 90. Lebenstag durchgeführt werden. Es wurden dabei fortlaufend die querschnittlich gemittelten Werte für die Nasen-Schwanz-Länge (NSL), das Gewicht (G) und die Serumkonzentrationen der Hormone Somatomedin (SM), Wachstumshormon (GH), Insulin (IRI), Dehydroepiandrosteron (DHEA), Testosteron (T), Östradiol (E_2) sowie Prolaktin (Prl) in Tagesabständen bestimmt.
Ziel dieser - und einer von STÜTZLE (1982) erstellten Parallelarbeit für männliche Ratten - ist es, ein zeitlich lückenloses Bild der hormonellen Veränderungen und der Entwicklung von weiblichen, intakten Ratten zwischen ihrem 15. und 90. Lebenstag zu zeichnen, welches auch Grundlage und Vergleichsmaßstab für spätere Arbeiten sein soll, bei denen der experimentell veränderte endokrine Status untersucht wird. Darauf basierend soll die Frage zur Funktion geschlechts- und wachstumsrelevanter Hormone, ihren Veränderungen und ihrer wechselseitigen

Beeinflussung, d.h. der Verlauf des Wachstums unter der Steuerung von GH, Somatomedin und Insulin, die sexuelle Entwicklung - peripher durch DHEA, Testosteron, Estradiol und Prolaktin bewirkt - und die gegenseitige Beeinflussung, vor allem die des Wachstums durch die genannten Sexualhormone, diskutiert werden.

2. Material und Methoden

2.1. Versuchstiere

Verwendet wurden von uns für das Experiment weibliche Albino-Wistar-Ratten der Fa. Ivanovas, Kisslegg/Allgäu. Die Lieferung der Tiere erfolgte etappenweise, so daß vom jeweiligen Alterstag (15.-90. Alterstag) immer eine genügend große Anzahl Versuchstiere vorhanden war; mindestens jedoch 2 Tage vor ihrer Decapitation. So stand ihnen Zeit zur Gewöhnung an Umgebung und Menschenhand zur Verfügung. Bis zum 21. Lebenstag wurden die Versuchstiere in Gruppen von 20 Tieren mit einem Muttertier in je einem Käfig gehalten. Die Anzahl der Tiere pro Käfig wurde der Größe der Tiere entsprechend später reduziert und betrug bei den 90. Tage alten Tieren 3 pro Käfig.
Die Tiere wurden bei Temperaturen von 23 - 26°C und überwiegend künstlichem Licht von 6 - 20 Uhr MEZ in Käfigen der Fa. Ruco, Detmold, Makrolonkäfig Typ III, gehalten. Die Tiere erhielten Fertigfutter (Standard-Diät für Ratten und Mäuse) der Fa. Altromin GmbH, Lage/Lippe und täglich frisches Leitungswasser; beides ad libitum.

2.2. Blutabnahme

Um eine ungefähre Aussage über das Blutvolumen, vor allem der Jungtiere, und damit die Anzahl der erforderlichen weiblichen Tiere für einen Pool von mindestens 10 ml Blut bzw. 5 ml Plasma des jeweiligen Alterstages zu erhalten, wurden von uns in einem Vorversuch 16 Tiere (6 Tiere 15. Alterstag, 5 Tiere 30. Alterstag, 5 Tiere 60. Alterstag) getötet, wobei sich die Decapitation betäubter Tiere gegenüber der Herzpunktion äthernarkotisierter Tiere als vorteilhafter erwies.
Die Decapitation erfolgte, beginnend bei 15 Tage alten Ratten, im 2-Tages-Rhythmus (15., 17., 19.,21. Tag), ab

dem 22. Tag täglich fortlaufend (22., 23., 24.,...) bis zum 60. Alterstag und schließlich am 65., 70. und 90. Lebenstag. Die Tiere der jeweiligen Alterstage wurden aus einer entsprechenden Population gleichalter Tiere zufallsmäßig ausgewählt.
Die Betäubung erfolgte durch einen kurzzeitigen, kräftigen Schlag auf den Nasenrücken. Die sofort folgende Decapitation wurde durch Abtrennen des Kopfes mittels einer Haushaltsschere durchgeführt. Die zur Decapitation herangezogenen Tiere benahmen sich unauffällig, was uns wichtig erschien im Hinblick auf eine eventuelle Beeinflussung der Hormonkonzentrationen durch Stressituationen, wie sie verschiedene Autoren nachgewiesen haben (DUNN et al., 1972). Das auslaufende Blut wurde über einen mit Heparin-Natrium (Fa. medac-GmbH, USP XVIII/125.000 E) bestrichenen Trichter aufgefangen und in Polystyrolröhrchen (Fa. Sarstedt, Best.-nr. 55/466) geleitet. Nach Beendigung der Decapitation erfolgte Zentrifugation (Fa. Christ/Osterode, Typ UJ 2) für 10 min. bei 4000 Upm, Auftrennen des gewonnenen Plasmas in Mengen, wie sie für die späteren Hormonbestimmungen erforderlich waren, und die Lagerung bei -20°C.
Die tägliche Blut- bzw. Plasmagewinnung dauerte 3 - 4 Stunden und wurde am Morgen um 8 Uhr begonnen.

Es sei an dieser Stelle auf ein methodisches Faktum unserer Arbeit hingewiesen, welches sich aus der Art und Weise der Blutgewinnung zwingend ergibt: Auf Grund der Decapitation stellen die Werte für Körpergewicht, Nasen-Schwanz-Länge und Hormonkonzentrationen für jeden Alterstag Durchschnittswerte einer täglich neu gepoolten, unterschiedlich großen Rattenpopulation dar (Anzahl der Tiere pro Pool: siehe tabellarischer Anhang). Infolge der Lieferbedingungen der Fa. Ivanovas (Firmenangabe: Altersschwankungen $\pm$ 2 Tage) und des willkürlichen Auswahlverfahrens der zu decapitierenden Tiere aus einer größeren Anzahl gleichalter Tiere, sind unsere Ergebnisse im Einzelfall zu relativieren und als

Trendwerte einer Gesamtdarstellung aufzufassen. In diesem Sinne - Tendenzen und Trends hormoneller Entwicklung in der weiblichen Albino-Wistar-Ratte aufzuzeigen - war unsere Arbeit gedacht.

2.3. Messungen

Im Rahmen unserer Arbeit wurden gleichzeitig gemessen bzw. bestimmt: Körpergewicht, Nasen-Schwanz-Länge, Wachstumsgeschwindigkeit sowie der Plasmaspiegel der Hormone Somatomedin, GH, Insulin, DHEA, Testosteron, E_2 und Prolaktin bei weiblichen Ratten zwischen dem 15. und 90. Alterstag. (Alle Abkürzungen: siehe tabellarischer Anhang)

2.3.1. Längenmessung

Die Längen- und Gewichtsmessungen gingen jeweils der Decapitation der Ratten voraus. Dem Verfahren bei der Fa. Ivanovas und der Gewöhnung der Tiere entsprechend wurden diese am Schwanzende ergriffen, aus dem Käfig genommen und auf eine Meßlatte gelegt. Am Nackenfell und Schwanzende gehalten, konnten so die Tiere am schonensten auf $\pm$ 0,5 cm genau gemessen werden.

2.3.2. Gewichtsmessung

Die Ratten wurden mittels einer Haushaltswaage (Fa. Seca/Deutschland; 1 Teilstrich = 2 g, max. 500 g) gewogen.

2.3.3. Wachstumsgeschwindigkeit

Die Wachstumsgeschwindigkeit läßt sich mit der größten Signifikanz als Durchschnittswert über ein 10-Tages-Intervall ausdrücken. Dazu wurde der gesamte Versuchszeitraum in 39 10-Tages-Intervalle (15.-25. Tag, 16.-26. Tag, ...) unterteilt und die Differenz (in Gramm

bzw. Zentimeter) zwischen den Werten des Anfangs- und Endtages dieser Intervalle durch 10 dividiert. So erhält man eine durchschnittliche Gewichts- bzw. Längenwachstumsgeschwindigkeit in g/Tag bzw. cm/Tag.

2.3.4. Somatomedin im Plasma

Wir verwendeten für die Bestimmung der Plasmasomatomedinkonzentrationen einen Bioassay (modifiziert nach PHILIPPS et al., 1974; und van den BRANDE et al., 1974). Bei dieser Methode können gleichzeitig viele Plasmaproben gemessen werden, wobei die Durchführung relativ einfach ist und Ergebnisse mit guter Reproduzierbarkeit erbringt. Der Versuch wurde als echte Doppelbestimmung durchgeführt und erstreckte sich für die Untersuchung der 92 Plasmaproben über 4 aufeinanderfolgende Tage.

1. Tag:

Das Knorpelgewebe, auf dessen Verwendung der Bioassay basiert, wurde im Versuchsgut Oberer Lindenhof/Reutlingen-Eningen der Universität Hohenheim jeweils an einem Montag geholt. Es entstammt den letzten 3 am Sternum beidseits ansetzenden Rippenknorpeln von 3 bis 6 Monate alten, frisch geschlachteten Inzuchtschweinen (Rasse: Deutsches Landschwein). Damit das Knorpelgewebe nicht austrocknet, wird es bis zur weiteren Verarbeitung in physiologischer Kochsalzlösung (Fa. Braun/Melsungen, Art.-nr. 370044/5) gelagert. Mittels einer Präparierschere und eines Fleischermessers werden anschließend zunächst das umgebende Muskel- und Fettgewebe säuberlich entfernt, wobei hier wie in allen weiteren Versuchsschritten darauf zu achten ist, daß der Knorpel nicht durch Austrocknung geschädigt wird. Die gesäuberten Rippenknorpel werden mit einer elektrischen Fleischschneidemaschine (Fa. Bizerba/Balingen, Typ VS 6) in 1,5 mm dicke Scheiben geschnitten, die in Pufferlösung (siehe tabellarischer Anhang) aufbewahrt werden. Mit einem Stanzgerät (modifiziert nach van den BRANDE et al., 1974) werden definierte Zylinder von 2 mm Durch-

messer aus den peripheren Bereichen der Knorpelscheiben gestanzt und wiederum in einem Pufferbad gelagert. Werden Knorpel verschiedener Tiere verwendet, so sind diese streng getrennt zu verarbeiten, um Meßfehler durch Reaktivitätsunterschiede des Knorpelgewebes zu vermeiden.

Die Bestimmung der SM-Plasmakonzentration basiert auf der Anwendung einer Standardkurve, die durch eine Verdünnungsreihe eines in unserer Klinik von 8 erwachsenen Männern gewonnenen Plasma- bzw. Serumpools erstellt wurde. Dazu werden Verdünnungen von 0; 2,5; 5; 10; 20 und 40 % dieses Plasmas bzw. Serums mit Pufferlösung (siehe tabellarischer Anhang) hergestellt. Bei der sich anschließenden Inkubation für 18 - 20 h bei 37°C im Brutschrank (Fa. Haereus/Hanau, Typ RB 360) werden je 6 Knorpelzylinder pro Röhrchen (Fa. Sarstedt, Best.-nr. 55/483, halbkugeliger Boden) in 400 µl Lösung dieser Verdünnungsreihe und in zweimal (Doppelbestimmung) je 400 µl 10- bzw. 20 %-iger Verdünnung der zu untersuchenden Plasmaproben gelagert. Um Verdunstungsverluste und damit Ungenauigkeiten zu vermeiden, müssen die Röhrchen für die Dauer der Inkubation mit Parafilm (Fa. American Can Company/Dixie, Greenwich, Best.-nr. CT 06830) abgedeckt werden.

2. Tag:

Zu den pufferverdünnten Plasmaproben werden am zweiten Tag 1 µCi S^{35} (Fa. Amersham International Ltd., Code SJ 162) in 50 µl Puffer zugegeben und für 5 sec. auf einem Mixer (Fa. Heidolph, Typ Reax 1 R) geschüttelt. Anschließend erfolgt erneute Inkubation für 20 h bei 37°C im Brutschrank unter Parafilmverschluß.

3. Tag:

Nach Ablauf der Inkubationszeit werden sowohl das Inkubationsmedium als auch die Knorpelzylinder in Teflonröhrchen mit gelochtem Boden umgeschüttet. Dadurch ergibt sich eine Trennung von Knorpel und Medium. Durch Spülen der Knorpelzylinder unter fließendem Leitungswasser für 30 min. wird der nicht gebundene Schwefel

ausgewaschen. Daran anschließend werden die in jedem Teflonröhrchen enthaltenen 6 Knorpelzylinder aufgeteilt und in Gruppen von je 2 Zylindern in offenen Szintillationsröhrchen (Fa. Zinsser/Frankfurt, Best.-nr. 3071401) für 24 h getrocknet. (Anmerkung: Alternativ ist, ohne daß sich nach unseren Ergebnissen meßbare Unterschiede ergeben, eine Trocknung der Knorpelzylinder in einem Brutschrank (Fa. Memmert, Typ TV 40 U) bei 70°C für 2 h möglich.)

4. Tag:

Zu dem durch den Trocknungsvorgang geschrumpften und glasigklaren Knorpelzylinderpaar werden 250 µl (Modifikation zu van den BRANDE et al., 1974: dort 400 µl) 98 - 100 %-ige Ameisensäure (Fa. Merck/Darmstadt, Best.-nr. 264) hinzupipettiert. Danach werden die fest verschlossenen Szintillationsgefäße für 30 min. im Wasserbad (Fa. Köttermann AG/Hänigsen, Typ 3044) auf 75°C erwärmt, wodurch es zur Auflösung der Knorpelzylinder kommt. Zu den erkalteten Röhrchen werden später 10 ml Szintillationsflüssigkeit Unisolve I (Fa. Zinsser/Frankfurt, Best.-nr. 19927) gegeben. Im gekühlten Beta-Counter (Fa. Packard, Tri-Carb-Spectrometer 2460) erfolgt nach einer Verweildauer von etwa 24 h die Zählung der radioaktiven Zerfallsrate. Die Auswertung der Meßergebnisse geschieht nach einer von CAVALLI-SFOZA (1964) beschriebenen 4-Punkt-Wertbemessung biologisch wirksamer Substanzen mittels paralleler Wirkungsgeraden.
Nach Angaben von BREITNER (1981) wurde für die Intra-Assay-Variabilität dieser Methode in unserem Labor ein Wert von 8,2 %, für die Inter-Assay-Variabilität ein Wert von 11,4 % ermittelt.

2.3.5. Wachstumshormon im Plasma

Der Assay-Ansatz nach dem Prinzip eines Radio-Immuno-Assays erfolgte nach Angaben des NIH (National Institute of Health), Bethesda, Maryland, USA, mit einigen Modifikationen, wie z.B. der Jodierung nach RANKE et al. (1976).

Auch die übliche Doppelantikörpermethode zur Trennung von freiem und antikörpergebundenem Hormon entfiel zu Gunsten einer von DEBUQUOIS et al. (1971) beschriebenen Modifikation unter Verwendung von Polyäthylenglycol (PEG).
Die gesamte Messerie wurde als echte Doppelbestimmung in einem Ansatz bestimmt, wobei die untere Nachweisgrenze im RIA 3,1 ng/ml bzw. die Intra-Assay-Variabilität 6,1 % beträgt.
Zu Assay-Prozedur:
1.)In jedes Röhrchen (Fa. Sarstedt, Best,-nr. 55/483) werden 500 µl Freedlander-Puffer (siehe tabellarischer Anhang) gegeben.
2.)Für die Standardkurve werden 0,39; 0,78; 1,56; 3,125; 6,25; 12,5; 25 und 50 ng NIAMDD(National Institutes of Arthritis and Metabolic Diseases Distribution Office)-Rat-GH-RP-1 in je 100 µl Diluent und zur Plasmaprobenbestimmung 100 µl Plasma sowie zur Bestimmung der B_o- bzw. unspezifischen Bindung 100 µl bzw. 200 µl Diluent in Polystyrolröhrchen (Fa. Sarstedt, Best.-nr. 55/483) pipettiert. Dazu werden 100 µl des 1. Antikörpers NIAMDD-Antirat-GH-Serum III, im Assay-Puffer auf 1:3200 verdünnt, in jedes Röhrchen, ausgenommen das der unspezifischen Bindung, gegeben.
3.)Das Reaktionsgemisch wird auf dem Rotamix-Mischgerät (s.o.) geschüttelt und für 24 h bei 4°C im Kühlraum inkubiert.
4.)Als Trägerprotein werden jeweils 50 µl menschliches Serum hinzupipettiert, so daß jetzt in jedem Reagenzglas 650 µl vorhanden sind.
5.)Nun wird PEG 6000 (Fa. Merck-Schuchardt, Best.- nr. 807491) im Verhältnis 1:1 -also 650 µl- zugegeben, geschüttelt, 2 h bei Zimmertemperatur und weitere 8 h bei 4°C inkubiert. PEG wird hierbei in einer 25 %-igen Pufferlösung verwendet.
6.)Sämtliche Röhrchen werden bei 3200 Upm für 30 min. zentrifugiert (Fa. Hattich/Tuttlingen, Rotixa/A) und der Überstand mittels einer genormten Wasserstrahlpumpe abgesaugt, ohne dabei das Präzipitat zu entfernen.

7.)Die unter 6.) beschriebene Prozedur wird nach Zugabe von 2 ml Freedlander-Puffer zur Erhöhung der Assay-Genauigkeit wiederholt.
8.)Die Radioaktivität des Präzipitates wird im Gamma-Zähler gemessen (Fa. Packard, Model A 800 CD).
9.)Aus mitgeführten Referenzpräparaten wird eine Standardkurve erstellt, von der die entsprechenden Hormonkonzentrationen untersuchter Plasmaproben in ng NIAMDD-Rat-GH-RP-1 abgelesen werden können.

2.3.6. Insulin im Plasma

Zur Bestimmung des Plasmainsulinspiegels verwendeten wir einen Radioimmunoassay, modifiziert nach HALES und RANDLE (1963), basierend auf der Anwendung der Doppelantikörpermethode. Als Standard-Insulin diente kristallines Ratten-Insulin (Fa. Novo/Kopenhagen, lot-no. 810611). Dieses wurde in einer Menge von 100 µg in 5 ml bidestilliertem Wasser (s.o.) aufgelöst und anschliessend mehrmals mit Freedlander-Puffer (siehe tabellarischer Anhang) verdünnt. Je 100 µl dieses Standards bzw. der Plasmaproben wurden im Rahmen der Assay-Prozedur dann mit 500 µl Freedlander-Puffer und 100 µl des 1. Antikörpers (Fa. Wellcome Research Laboratories/Beckenham/England, Anti-Insulin-Serum (Guinea-Pig) RD 10) versetzt, gut geschüttelt und für 24 h bei 4°C im Kühlraum inkubiert. Am zweiten Versuchstag wurden 100 µl Tracer (Fa. Serono/Freiburg, Code 3623, Gesamtaktivität 1,5 µCi/15 ml) zugegeben. Das Raktionsgemisch wurde danach weitere 48 h bei 4°C inkubiert. Nach Ablauf dieser Frist wurden 50 µl des 2. Antikörpers (Fa. Wellcome, Wellcome Anti-Guineapig-Precipitating-Serum RD 18) und 200 µl Complement (Fa. Wellcome, Wellcome Complement CT 01) hinzupipettiert. Nach 4 h Inkubation bei 37°C erfolgte für 30 min. Zentrifugation (Fa. Hettich/Tuttlingen, Rotixa/A) und Decantierung des Überstandes. Nach nochmaligem Waschen mit 1 ml Freedlander-Puffer wurde die Zentrifugation und Decantierung wiederholt

und anschließend die radioaktive Zerfallsrate im Gamma-Counter (Fa. Packard, Packard Auto-Gamma-Scintillation-Spectrometer, Model 5160) gezählt (Zähldauer: 3 min.). Nach Untersuchungen unseres Labors beträgt die Intra-Assay-Variabilität bei diesem Verfahren ca. 9 %, die Inter-Assay-Variabilität ca. 13 %.

2.3.7. Dehydroepiandrosteron im Plasma

Die DHEA-Plasmakonzentration wurde mit einem RIA-Test-Set der Fa. Wien Laboratories Inc./ Succasunna, Catalog Nr. DS-2100 bestimmt. Bei diesem Immunoassay erfolgt eine Extraktion der Steroide mit Methylenchlorid (Fa. Merck/Darmstadt, Best.-nr. 6050 p.a.). Nach Angaben des Herstellers weist der zu DHEA hochspezifische Antikörper nur geringe Kreuzreaktionen zu einigen anderen Steroiden auf, so daß auf eine dünnschichtchromatographische Trennung des Präzipitates verzichtet werden kann.

Tab.1: Affinität des DHEA-Antikörpers zu einigen Steroiden (nach Angaben des Herstellers):

Δ5-Androsten-3ß,17ß-diol:	24% bei Zugabe von 250 bzw. 500 pg dieser Verbindung
Isoandrosteron	: ≤ 20%
11-Keto-Androsteron	: ≤ 11%
DHEA-Sulfat	: 3% bei Zugabe von 1000 pg DHEA-Sulfat

Auf Grund der gegenüber menschlichem Plasma bzw. Serum wesentlich geringeren DHEA-Konzentrationen im Plasma weiblicher Ratten mußte der Assay-Ablauf von uns modifiziert werden. Eine ausführliche Beschreibung der ursprünglichen Assay-Prozedur findet sich bei RUDOLPH (1981). Hier sei lediglich auf die von uns vorgenommenen Abwandlungen hingewiesen, die in mehreren Vorversuchen ermittelt wurden und notwendig waren, um die

Empfindlichkeitsgrenze des Assays zu erreichen bzw. die Hormonkonzentrationen auf die Sensitivität des RIA einzustellen.
Im Rahmen einer echten Doppelbestimmung, bei der wir pro Versuchs- bzw. Alterstag der Ratten zweimal 200 µl Plasma einsetzten, wurden der Antikörper und radioaktiv markiertes Hormon H^3-DHEA (Tracer) nicht, wie in der Testanleitung beschrieben, direkt aufeinanderfolgend zugegeben, sondern zeitlich versetzt im Abstand von 90 min., wobei das Reaktionsgemisch in der Zwischenzeit bei 4°C im Kühlraum inkubiert wurde. So ergab sich vor allem im Bereich niedriger DHEA-Konzentrationswerte eine entsprechende Versteilerung der Standardkurve (siehe RODBARD et al.,1971). Weiterhin war es nötig, das beim Extraktionsverfahren abpipettierte und bei 45°C im Wasserbad (s.o.) schrittweise eingedampfte Volumen des Extraktionsmittels und damit die für alle weiteren Schritte des RIA zur Verfügung stehende Hormonmenge zu vergrößern. Aus diesem Grund wurde das einzudampfende Volumen auf 15 ml angehoben und in 4 Schritten nach und nach eingedampft. (Anmerkung: Dadurch war sichergestellt, daß bei der späteren Zugabe von 900 µl Puffer und dem Schüttelvorgang auf einem Vortexmixer (s.o.) der zirkulär am Reagenzglas haftende weißliche Niederschlag vollständig erfaßt wurde und in Lösung ging.) Abschließend wurden nach der Zentrifugation (s.o.) des Reaktionsgemisches nicht 500 µl (RUDOLPH, 1981) sondern 700 µl des Überstandes in Szintillationsröhrchen (s.o.) übertragen und, im Gegensatz zur Testanleitung, lediglich 5 ml Unisolve I (s.o.) zugegeben. Die Abweichung zwischen den Zählergebnissen einer Doppelbestimmung war bei nur halbstündiger Wartezeit bis zum Beginn der Zählung auffallend groß und ohne jede erkennbare Gesetzmäßigkeit, weswegen wir die Zählung erst nach 10 Stunden nach dem letzten Versuchsschritt im Beta-Counter (Fa. Packard, Tri-Carb-Liquid-Szintillation-Counter, Model BPL) begannen.
Die Intra-Assay-Variabilität betrug 6 %, die Inter-Assay-Variabilität 9%, die RIA-Sensitivität ca. 15 pg.

2.3.8. Testosteron im Plasma

Für die Bestimmung der Testosteronkonzentrationen im Plasma weiblicher Wistar-Ratten verwendeten wir einen RIA-Test-Set der Fa. Wien Laboratories, Succasunna, New Jersey, Cat.-nr. TS 333, welches auf einer Modifikation der Methode von CHEN et al. (1971) basiert. Kreuzreaktionen des für Testosteron und Dihydrotestosteron spezifischen Antikörpers finden nach Angaben des Herstellers nur in sehr geringem Ausmaß mit einigen anderen Steroiden statt.

Tab.2: Affinität des T-Antikörpers zu einigen Steroiden (nach Angaben des Herstellers):

1000 pg	5-alpha-Dihydrotestosteron	545 pg
1000 pg	Δ1-Testosteron	425 pg
1000 pg	Δ5-Androsten-3ß,17ß-diol	< 50 pg
50 ng	Progesteron	< 50 pg
10 ng	DHEA	< 50 pg

Zugabe der entsprechenden Steroidmengen führt zu gleichwertigen Reaktionen wie bei rechtsseitig angeführten Testosteron-Äquivalentmengen.

In Abänderung der Assay-Prozedur, wie sie sich bei RUDOLPH (1981) sowie in der Testbeschreibung der Fa. Wien Laboratories findet, erhöhten wir den Plasmaeinsatz von 300 µl auf 500 µl, um damit in einen günstigeren Meßbereich der Standardkurve zu gelangen. Als Extrationsmittel verwendeten wir nicht Methylenchlorid (s.o.), sondern ein Gemisch aus 3 Teilen Essigsäureäthylester (Fa. Merck/Darmstadt, Best.-nr. 9632 p.a.) und 2 Teilen n-Hexan (Fa. Merck/Darmstadt, Best.-nr. 4367 p.a.), wodurch sich, im Gegensatz zu Methylenchlorid, auf Grund der gegenüber Wasser geringeren Dichte das Extraktionsgemisch als Überstand über der wässrigen Phase leichter abpipettieren läßt. Gleichzeitig erhöht

sich für das neue Extraktionsmittel die Recovery um etwa 5 - 10 % gegenüber der bisherigen Extraktionssubstanz. Aus der oben stehenden Phase des Extraktionsgemisches wurden je 4 ml in 2 Schritten zu je 2 ml in zwei konische Glasröhrchen pipettiert (zur Doppelbestimmung). (Anmerkung: Dadurch kann sichergestellt werden, daß nach dem schrittweise erfolgten Eindampfen durch die relativ niedrigen Flüssigkeitsspiegel später der gesamte Niederschlag vom Puffer bei Rotation auf dem Vortex-Mixer erfaßt wird.) Im Gegensatz zu den angegebenen 10 min. verlängerten wir die Inkubationszeit nach Zugabe der Dextran-Kohle (siehe tabellarischer Anhang) auf 20 min., so daß eine vollständige Absorption des nicht antikörpergebundenen Tracers an die Dextran-Kohle gewährleistet ist. Die verwendete Kohle sollte auf 4°C gekühlt und mindestens 20 min. vor ihrer Zugabe mit einem Magnetrührer (Fa. Janke und Kunkel KG./Stauffen i. Br., Typ RCH) gut durchmischt sein. Das nach der Zentrifugation (s.o.) in Szintillationsröhrchen übertragene Volumen erhöhten wir von 500 µl (RUDOLPH, 1981) auf 800 µl und fügten 10 ml Aquasol (Fa. New England Nuclear/Boston, Cat.-nr. NEF-934) zu. Bis zum Zählbeginn wurden die Szintillationsgefäße 11 Stunden bei Raumtemperatur inkubiert.

Der Mittelwert eines männlichen Kontrollserums, daß in 13 Ansätzen von uns bestimmt wurde, lag bei 327,4 ± 48,3 ng/dl, was einem Variationskoeffizienten von 14,7 % entspricht. Die Inter-Assay-Variabilität beträgt nach Angaben von RUDOLPH (1981) 11,4 %, die Sensitivität nach Auskunft des Herstellers 10 ng/dl.

2.3.9. Östradiol im Plasma

Die Bestimmung der Östradiolkonzentration im Plasma weiblicher Wistar-Ratten wurde mittels eines RIA-Test-Kits der Fa. Wien Laboratories, Succasunna, New Jersey, Cat.-nr. ES 666 durchgeführt, der eine Modifikation nach MIKHAIL et al., 1970; darstellt. Der Antikörper ist hochspezifisch und besitzt nach Angaben des Herstellers nur

geringe, praktisch vernachlässigbare Affinität zu einigen verwandten Steroiden.

Tab.3: Affinität des E_2-Antikörpers zu einigen Steroiden (nach Angaben des Herstellers):

500 pg	Östradiol-16-one	175 pg	35,0 %
5000 pg	Östradiol-16-one	77o pg	15,4 %
100 pg	Östrone	<10 pg	<10,0 %
500 pg	Östrone	25 pg	5,0 %
500 pg	Östrone-1-methyl	130 pg	26,0 %
5000 pg	Östriol	10 pg	0,2 %

Zugabe der entsprechenden Steroidmengen führt zu Kreuzreaktionen (prozentuale Angaben) bzw. zu gleichwertigen Reaktionen wie bei rechtsseitig angeführten Östradiol-Äquivalentmengen.

Im folgenden wird die Assay-Prozedur, wie sie die Fa. Wien Laboratories angibt und wie sie in unserem Labor durchgeführt wird, beschrieben:
In ein 20-ml-Schliffglas werden 400 µl Plasma gegeben und 1 ml Ampuva (Fa. Fresenius / Bad Homburg, FFW 0601) hinzupipettiert. Für die Bestimmung des Leerwertes verwendet man 2 ml Ampuva; die Recovery wird mittels eines Probeserums unter Zugabe von 50 µl H^3-Östradiol nach 30 min. Inkubation bei 37°C im Brutschrank (s.o.) bestimmt. In jedes Schliffglas werden nun 10 ml Methylenchlorid (s.o.) pipettiert und auf dem Rotamix (s.o.) für 10 sec. kräftig durchmischt. Diese Durchmischung wird für die Dauer von 10 min. bei 200 Upm auf dem Rotator (Fa. Bühler/Tübingen, Typ A1) fortgesetzt. Die Schliffgläser müssen dann für 1 min. bei maximaler Umdrehungszahl zentrifugiert werden (Fa. Christ/Osterode, Typ UJ 3 EX). Der wässrige Überstand wird mittels einer Wasserstrahlpumpe abgesaugt und schrittweise zweimal 4 ml der Methylenchlorid-Phase in einem Zentrifugengläschen bei 45°C im Wasserbad (s.o.) unter Luftzufuhr

eingedampft. Durch Zugabe von 800 µl Puffer (20°C) und Schütteln auf dem Vortex-Mixer für 10 sec. wird der Niederschlag aufgelöst. Der Assay-Ansatz bleibt danach für 24 Stunden im Kühlraum bei 4°C inkubiert. Am darauffolgenden Tag werden im Kühlraum 100 µl des 1:8 mit Puffer verdünnten Antikörpers (ebenfalls auf 4°C gekühlt) zugegeben, gut gemischt und exakt 80 min. inkubiert. Danach werden 50 µl des 1:4 mit Puffer verdünnten H^3-Östradiol (4°C) hinzupipettiert, gemischt und für 65 min. inkubiert. Nach Ablauf dieser Frist müssen 500 µl Dextran-Kohle (siehe tabellarischer Anhang), welche mindestens 20 min. lang zuvor auf einem Magnetrührer (s.o.) durchmischt wurde, sehr zügig zugegeben werden. Exakt nach weiteren 20 min., nachdem der letzte Reaktionsschritt vollzogen wurde, erfolgt Zentrifugation (s.o.) für 7 min. bei 1100 g. Vom klaren Überstand werden vorsichtig 800 µl abpipettiert und in ein 20-ml-Szintillationsgefäß (Fa. Zinsser/Frankfurt, Best.-nr. 3071401) gegeben, welches mit 10 ml Unisolve I (s.o.) aufgefüllt und geschüttelt wird. Nach 11-stündiger Inkubation bei Raumtemperatur erfolgt die Zählung der radioaktiven Zerfallsrate im Beta-Counter mit einer Zähldauer von 10 min. pro Röhrchen (Fa. Packard, Tri-Carb-Liquid-Szintillation-Spectrometer, Model 2002).
Diese Methode erwies sich zur Bestimmung von Östradiol im Plasma weiblicher Ratten als nicht geeignet, da die Konzentrationen unterhalb der Sensitivität dieses RIA bzw. in einem zu flachen Bereich der Standardkurve lagen. In drei weiteren Probeläufen galt es, die Sensitivität des Assays durch Variation der Plasmamenge bzw. der Mengen und Konzentrationen von Puffer, Antikörper und Tracer zu steigern. Der Plasmaeinsatz dieser Vorversuche betrug alternativ 400 µl bzw. 1000 µl. In den einzelnen Probeläufen wurden von uns folgende Ergebnisse für die Gestalt der Standardkurve und somit für den entsprechenden Meßbereich erzielt:

Probelauf 1:	Ansatz:	400 µl bzw. 1000 µl Plasma 800 µl Puffer 100 µl Antikörper (1:4 verd.) 50 µl Tracer (1:1 verd.)
	Ergebnis:	Die Standardkurve zeigt einen geringgradig steileren Verlauf in dem für die Messungen relevanten Bereich, was aber für eine exakte Bestimmung der Hormonkonzentrationen noch nicht ausreicht.
Probelauf 2:	Ansatz:	400 µl bzw. 1000 µl Plasma 500 µl Puffer 50 µl Antikörper (1:4 verd.) 50 µl Tracer (1:1 verd.)
	Ergebnis:	wie Probelauf 1
Probelauf 3:	Ansatz:	400 µl bzw. 1000 µl Plasma 500 µl Puffer 100 µl Antikörper (1:4 verd.) 50 µl Tracer (1:1 verd.)
	Ergebnis:	Die Standardkurve zeigt einen deutlich steileren Verlauf bei gleichzeitiger Linksverschiebung.

Durch die Erhöhung des Plasmaeinsatzes, der Änderung von Menge und Konzentration des Tracers und Antikörpers und der daraus resultierenden Versteilerung der Standardkurve ist es uns gelungen, einen Assay-Ablauf zu erstellen, der für die Bestimmung der relativ niedrigen Östradiolkonzentrationen im Plasma weiblicher Wistar-Ratten als geeignet anzusehen ist. In einem abschließenden Probelauf wurde die Effizienz dieser Modifikation nochmals überprüft und schließlich bei der endgültigen Bestimmung angewandt. Der Plasmaeinsatz betrug dabei 1000 µl, der auf Zimmertemperatur gehaltene Puffer wurde nach dem Eindampfen in einer Menge von 600 µl hinzupipettiert. Der Antikörper muß mit Puffer 1:4 verdünnt werden. Davon werden im Assay 75 µl pro Probe verwendet. Nach 80-minütiger Inkubation werden 50 µl des 1:1 mit Puffer ver-

dünnten Tracers hinzugegeben. Der genaue Ablauf wurde bereits eingangs dieses Kapitels beschrieben.

Die Standardreihe zur Erstellung der Standardkurve ist mit absolutem Alkohol (Fa. Merck/Darmstadt, Best.-nr. 972) im Verhältnis 1:10 bzw. 1:100 zu verdünnen. Vom unverdünnten Standard werden 25 µl, vom 1:10 verdünnten Standard werden 15 µl, 25 µl, 50 µl und 100 µl und vom 1:100 verdünnten Standard 25 µl, 50 µl, 75 µl und 100 µl in konische Glasröhrchen pipettiert und bei 45 °C im Wasserbad (s.o.) unter Luftzufuhr eingedampft.

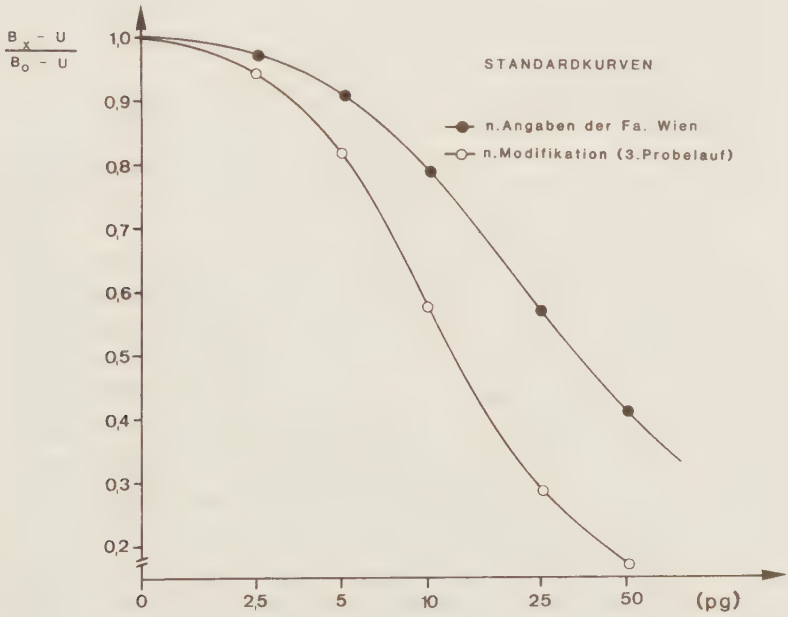


Abb.1: Standardkurven zur Östradiolbestimmung
(nach Angaben der Fa. Wien bzw. nach Modifikation)

2.3.10. Prolaktin im Plasma

Der Prolaktinspiegel im Plasma weiblicher Ratten wurde mit einem RIA-Test-Kit (Fa. Serono/Freiburg, Code 1803) bestimmt. Die Sensitivität des Verfahrens liegt für humanes Prolaktin bei 0,5 bis 1,0 ng/ml. Als Kreuzreaktionen werden von der Fa. Serono für das hPrl-Antiserum folgende Werte angegeben:

Tab.4: Relative Affinität des Prolaktin-Antikörpers gegenüber einigen Hormonen (nach Angaben des Herstellers):

hGH	0,152 %
TSH	0,389 %
hCG	fehlt bis 81,00 IU/ml
LH	fehlt bis 43,75 IU/ml
FSH	fehlt bis 19,50 IU/ml

Der Antikörper gegen hPrl wurde durch Injektion beim Kaninchen gewonnen. Die Trennung von gebundenem und "freien" hPrl im Ansatz erfolgte mittels eines zweiten Antikörpers (Anti-Kaninchen Gamma-Globulin von der Ziege).

Eine genaue Beschreibung des Assayablaufs findet sich in der dem Test-Kit beiliegenden Arbeitsanleitung der Fa. Serono. Es sei deshalb hier lediglich das methodische Vorgehen tabellarisch zusammengefaßt.

Tab.5: Arbeitsschritte zur Bestimmung der Plasma-Prolaktin-Konzentrationen

Reagenzien	Standard	Rattenplasma
Rattenplasma	--	0,1 ml
hPrl-Standards	0,1 ml	--
1. Antikörper	0,1 ml	0,1 ml
^{125}J-hPrl	0,1 ml	0,1 ml
	- Inkubation -	

Tab.5: Arbeitsschritte zur Bestimmung der Plasma-Prolaktin-Konzentrationen, Fortsetzung

Reagenzien	Standard	Rattenplasma
2. Antikörper	0,1 ml	0,1 ml
	- Inkubation -	
Bidestilliertes Wasser	2,0 ml	2,0 ml

Alle Röhrchen - außer dem für die Bestimmung der totalen Aktivität - werden nachfolgend bei 1500 - 3000 g 15 min. lang zentrifugiert (Fa. Hettich/Tuttlingen, Rotixa/A), der sich nach Niederschlag des Präzipitates bildende Überstand sorgfältig decantiert und der noch verbleibende letzte Tropfen vom Rand des Reagenzglases mit einem Filterpapierstückchen aufgesaugt. (Anmerkung: Das Verfahren erweist sich jedoch als unvermindert exakt, wird der Überstand lediglich mit einer Wasserstrahlpumpe und einer auf die Länge der Röhrchen eingestellten Kanüle abgesaugt.) Die Zählung der radioaktiven Zerfallsrate wurde schließlich im Gamma-Counter (Fa. Packard, Packard Auto-Gamma-Scintillation-Spectrometer, Model 5160) durchgeführt.
Die hPrl-Standards werden zum Zweck der Erstellung einer Standardkurve zuvor in bidestilliertem Wasser (s.o.) aufgelöst und sorgfältig gemischt. Jede Konzentration (0 ng/ml; 2,5 ng/ml; 5 ng/ml; 10 ng/ml; 20 ng/ml; 40 ng/ml; 100 ng/ml) ergibt nach Versuchsdurchführung einen entsprechenden Punkt auf der Standardkurve und dient somit zur Bestimmung der unbekannten Plasma-Prl-Werte.

Da der gegen hPrl gerichtete Antikörper nicht hormonspezifisch ist, sondern auch mit rPrl reagiert, war eine Bestimmung des Ratten-Prolaktin mit dieser Methode (heterologer Assay) möglich. Die relative Potenz des rPrl-Standardmaterials (NIADDK-Rat-Prl-RP-3, AFP-4459 B, Bethesta, MD) gegenüber dem im Assay verwendeten hPrl-Standard (WHO 75/504) betrug 0,4902.

2.4. Berechnung

2.4.1. Berechnung der Somatomedinkonzentration

Die Plasma-SM-Konzentrationsbestimmung erfolgte über eine von uns erstellte Standardkurve, die sich durch Verdünnung eines Poolserums von 8 erwachsenen Männern mit entsprechenden Puffermengen (Verdünnungen: 0; 2,5; 5; 10; 20 und 40 %) und anschließender, analog zu den Proben erfolgender Verarbeitung ergibt. Als 1 Einheit (1 E bzw. 1 U) wurde die SM-Konzentration des Pools angenommen, die bei einer entsprechenden Anzahl von Männern als im Durchschnitt konstant angesehen werden kann. Das Rattenplasma wurde in 10- bzw. 20 %-iger Verdünnung im Assay untersucht. Somit war es möglich, aus diesen Verdünnungen des Standards und der Testseren bzw. den daraus sich ergebenden, graphisch darstellbaren Geraden nach der Vier-Punkt-Wertbemessung biologisch wirksamer Substanzen (CAVALLI-SFORZA, 1964) über den gemeinsamen Schnittpunkt die relative SM-Konzentration des jeweiligen Testplasmas zu ermitteln. Die Berechnung erfolgte mittels eines programmierbaren Computers (Fa. Hewlett-Packard, Calculator 9810 A).

2.4.2. Berechnung der GH-, Insulin-, DHEA-, Testosteron-, Östradiol- und Prolaktinkonzentrationen

An Hand eines im jeweils verwendeten RIA-Kit enthaltenen bzw. von uns erstellten Standards definierter Hormonmenge und deren Verdünnungen wurde eine Standardkurve ermittelt, über die die Hormonkonzentrationen bestimmt werden konnten. Die graphische Darstellung erfolgte in einem Koordinatensystem, auf dessen Ordinate die Werte der Verdünnungsreihe in ng/ml, ng/dl, U/ml bzw. µU/ml aufgetragen wurden.

Der Quotient $\frac{B_x - U}{B_o - U}$ (siehe tabellarischer Anhang) liefert die Werteeinteilung der Abszisse zwischen 0 und 1. Über die sich so ergebende sigmoidale Kurve (siehe Abb.1)

wurden nun in ihrem steilsten Bereich entweder graphisch-manuell (GH/Insulin), mittels eines programmierbaren Tischcomputers (Fa. Hewlett-Packard, Model 9810 A) (DHEA/T/E_2) oder mittels eines programmierbaren Gamma-Counters (Fa. Packard, Packard Auto-Gamma-Scintillation-Spectrometer, Model 5160) (Prolaktin) die Konzentrationswerte der Rattenplasmaproben ermittelt.
Bei der Bestimmung von Steroiden (DHEA/T/E_2) geht der Bestimmung im RIA ein Extraktionsschritt voraus. Dabei werden Faktoren mit in die Methoden eingebracht, die sich auch in Abwesenheit des zu bestimmenden Hormons geringfügig negativ auf die Bindung des "Tracers" an den spezifischen Antikörper auswirken. Dieser unspezifische Effekt, der die Existenz einer bestimmten Hormonmenge in der Probe vortäuscht, wird auch als "Blanc-Wert" bezeichnet. Er wird von den ermittelten Hormonkonzentrationen jeweils abgezogen.

3. Ergebnisse

3.1. Wachstum und Wachstumsgeschwindigkeit

Im Rahmen dieser Arbeit wurden sowohl die Längen- als auch die Körpergewichtszunahme der Versuchstiere als Parameter für die Beurteilung ihrer Wachstumsvorgänge herangezogen, wobei die Messungen (siehe 2.3.1. und 2.3.2.) in Abständen von 2 Tagen (15. bis 21. Alterstag), 1 Tag (22. bis 60. Alterstag) und am 65., 70. und 90. Alterstag erfolgten. An Hand der Auswertung der durch diese Messungen erzielten Ergebnisse war ferner die exakte Bestimmung der Wachstumsgeschwindigkeit, bezogen sowohl auf die Nasen-Schwanz-Länge als auch auf das Gewicht, möglich.

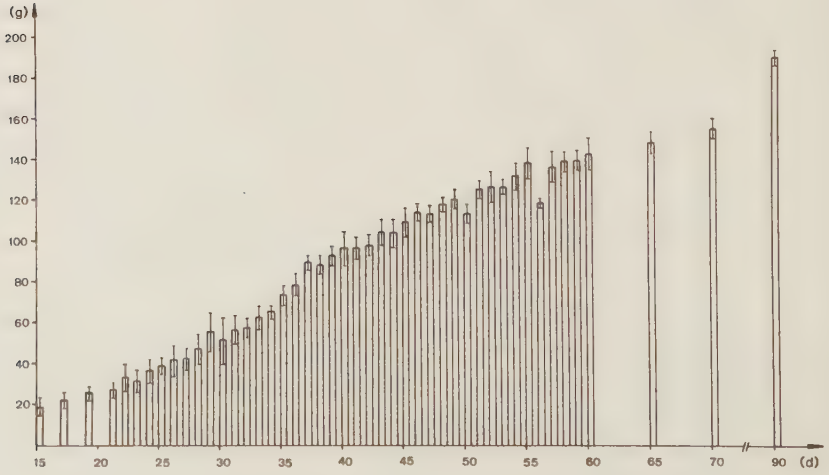


Abb.2: Verlauf des Körpergewichts weiblicher Albino-Wistar-Ratten zwischen dem 15. und 90. Tag (Zum Mittelwert $\bar{x}$ ist die Standardabweichung ± 1 s eingezeichnet.)

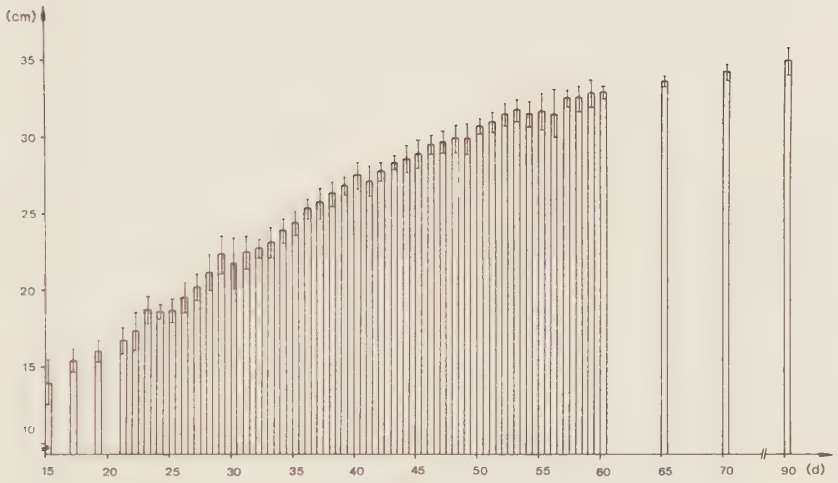


Abb.3: Verlauf der Nasen-Schwanz-Länge weiblicher Albino-Wistar-Ratten zwischen dem 15. und 90. Tag (Zum Mittelwert $\bar{x}$ ist die Standardabweichung ± 1 s eingezeichnet.)

Betrachtet man die in Abb.2 dargestellte Kurve als Verlauf des Körpergewichts zwischen dem 15. und 90. Lebenstag, so fällt ihr charakteristischer Verlauf, der durch den Vergleich mit entsprechenden Darstellungen der Werte männlicher Tiere (STÜTZLE, 1982) noch bestätigt wird, ins Auge. Deutlich lassen sich drei zeitliche Abschnitte erkennen: Ein erster Abschnitt zwischen dem 15. und 4o. Tag, in dem das Körpergewicht weiblicher Ratten von durchschnittlich 18,7 g für 15 Tage alte Tiere auf 96,7 g für 40 Tage alte Tiere ansteigt, die Kurve selbst aber stark einer Parabel ähnelt. Zwischen dem 40. und 55. Alterstag schließt sich ein zweiter Abschnitt in der Entwicklung des Körpergewichts an, in dem sich die Kurve merklich abflacht und nahezu geradlinig verläuft. Am Ende dieses Entwicklungsabschnittes weisen 55 Tage alte weibliche Tiere ein durchschnittliches Gewicht von 138,5 g auf. Eine nochmalige Abflachung

der Kurve tritt nach dem 55. Tag ein, wobei die Steigung nahezu konstant bleibt. Am Ende des Untersuchungszeitraumes haben die Tiere im Durchschnitt ein Gewicht von 189,8 g.

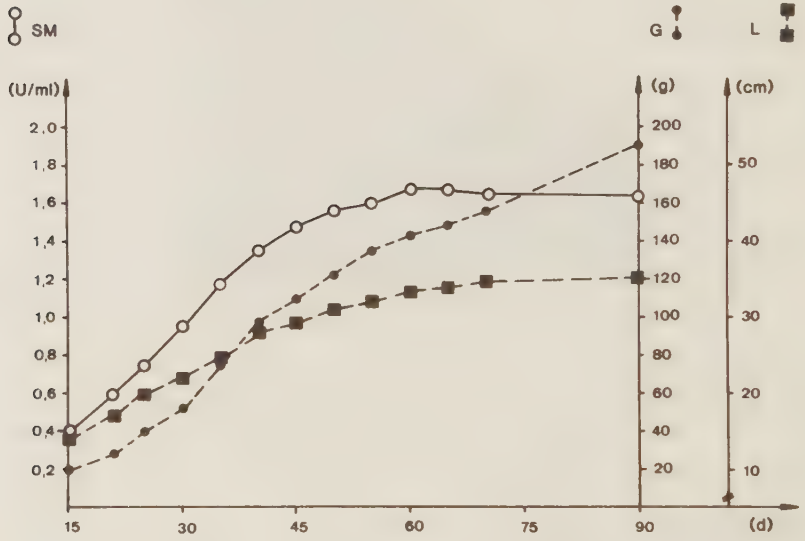


Abb.4: Vergleichende Darstellung der mittleren Gewichts- und Längenentwicklung und der Verlauf der SM-Konzentration im Plasma weiblicher Albino-Wistar-Ratten zwischen dem 15. und 90. Tag

Die oben beschriebene Charakteristik tritt deutlicher noch in Abb.4 hervor.
Auf die erwähnten, bei der Behandlung entsprechender Darstellungen der Hormonverläufe aber noch wiederholt auftretenden und dort zu nennenden Alterstage mit deutlicher Verlaufsänderung der jeweiligen Parameter sei hier bereits hingewiesen.
Liefert die Auswertung und graphische Darstellung des Körpergewichts eine Kurve mit drei deutlichen Abschnitten, so

zeigt die Darstellung des Verlaufs der Nasen-Schwanz-Länge zwischen dem 15. und 90. Tag in Abb.3 einen wesentlich gleichmäßigeren, in etwa sigmoidalen Verlauf. Ausgangspunkt der Graphik sind 15 Tage alte Tiere mit einer Gesamtlänge von durchschnittlich 15 cm. Infolge einer anfangs raschen, später sich mehr und mehr verlangsamenden Zunahme steigt die Nasen-Schwanz-Länge auf ca. 35 cm am 90. Tag an. Auch für diesen Wachstumsparameter weisen die Werte weiblicher Tiere große qualitative Ähnlichkeit mit denen gleichaltriger männlicher Tiere auf, wie sie von STÜTZLE (1982) in einer Parallelstudie ermittelt wurden. Danach weichen bis zum 48. Alterstag die Gewichts- bzw. Längenwerte beider Geschlechter um weniger als eine Standardabweichung voneinander ab. Später ist der Abstand mit einer Standardabweichung signifikant und vergrößert sich nach dem 55. Tag für Gewichtswerte gleichaltriger Tiere sogar auf mehr als 2 s.

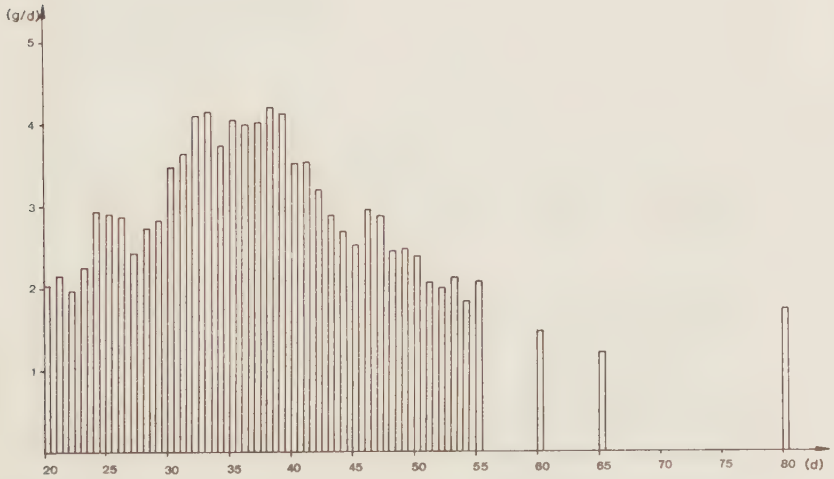


Abb.5: Verlauf der mittleren Körpergewichtswachstumsgeschwindigkeit weiblicher Albino-Wistar-Ratten zwischen dem 15. und 90. Tag

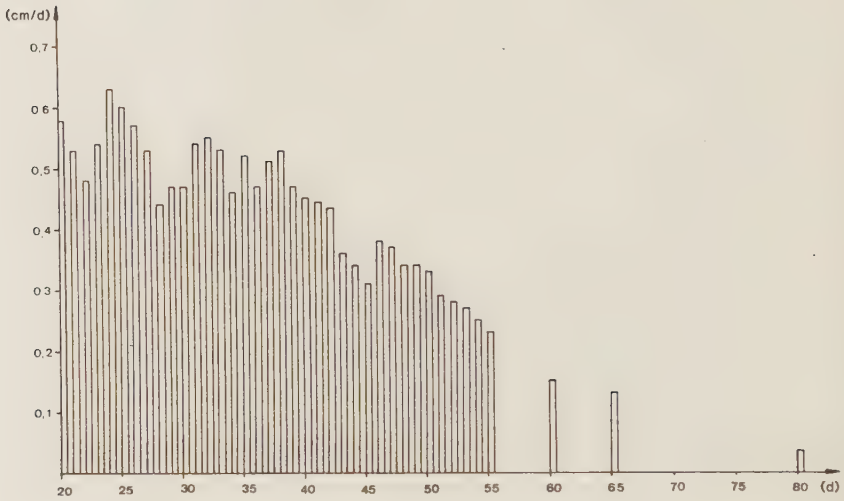


Abb.6: Verlauf der mittleren Längenwachstumsgeschwindigkeit (Nasen-Schwanz-Länge) weiblicher Albino-Wistar-Ratten zwischen dem 15. und 90. Tag

Die oben bereits beschriebene Form des Kurvenverlaufs wird durch die Darstellung der Wachstumsgeschwindigkeit bezogen auf Länge und Gewicht in Abb.5 und 6 noch verdeutlicht.
Betrachtet man die Gewichtswachstumsgeschwindigkeit weiblicher Tiere, so weist diese in der entsprechenden Darstellung zwischen dem 35. und 40. Tag ein deutliches Maximum mit etwa 4,25 g/d auf, analog der größten Kurvensteigung am Ende des ersten, oben bereits beschriebenen Abschnittes der Kurve des Gewichtsentwicklung. Dieses Intervall vom 35. bis 40. Tag muß, wie später noch begründet werden soll, als präpubertär angesehen werden. Nach dem 40. Tag verlangsamt sich die Gewichtszunahme pro Tag deutlich und ist am 55. Tag bereits auf Werte des 15. Tages für die Gewichtswachstumsgeschwindigkeit abgefallen, um sich gegen Ende des Versuchszeitraumes

auf Werte von durchschnittlich 1,75 g/d zu stabilisieren.
Die von STÜTZLE (1982) für männliche Ratten ermittelten Werte ergeben analog zu unseren ein erstes Maximum zwischen dem 35. und 40. Tag mit einer täglichen Gewichtszunahme von ca. 5,5 g. Der danach ebenfalls einsetzende Abfall wird bei männlichen Tieren jedoch durch ein zweites Maximum um den 55. Tag unterbrochen. Tiere dieses Alters weisen nach STÜTZLE (1982) eine durchschnittliche Gewichtswachstumsgeschwindigkeit von 5,7 g/d auf. Bis zum 70. Tag stellen sich schließlich nahezu konstante Endwerte von 1,5 g/d ein.
Die graphische Darstellung der Wachstumsgeschwindigkeit für die Nasen-Schwanz-Länge zeigt im Gegensatz zu der für das Gewicht kein deutlich ausgeprägtes Maximum, vielmehr manifestiert sich der oben beschriebene sigmoidale Verlauf der Gewichtsentwicklung in einer von Anfangswerten von rund 0,6 cm/d auf Endwerte von durchschnittlich 0,03 cm/d abfallenden Kurve.
Qualitativ wie auch quantitativ vergleichbare Ergebnisse gibt STÜTZLE (1982) in seiner Studie über männliche Ratten an. Auch dort finden sich anfängliche Maximalwerte von ca. 0,65 cm/d bzw. Endwerte von durchschnittlich 0,1 cm/d. Der dazwischenliegende Abfall weist jedoch bei männlichen Ratten eine Unterbrechung durch ein Maximum der Längenwachstumsgeschwindigkeit um den 55. Tag mit rund 0,42 cm/d auf.
Die Darstellung und Beschreibung der Wachstumsgeschwindigkeitskurven bezieht sich bei allen Angaben auf Durchschnittswerte, gemittelt über 10-Tages-Intervalle.

3.2. Somatomedin

Die SM-Aktivität im Plasma liegt bei weiblichen Tieren am 15. Alterstag bei 0,377 U/ml, um dann bis zum 40. Tag auf etwa 1,35 U/ml nahezu linear anzusteigen. Danach flacht sich die Kurve ab, erreicht am 60. Tag mit rund 1,67 U/ml ein absolutes Maximum und sinkt dann gering-

gradig bis zum Ende des Untersuchungszeitraumes am 90. Tag auf 1,63 U/ml ab.

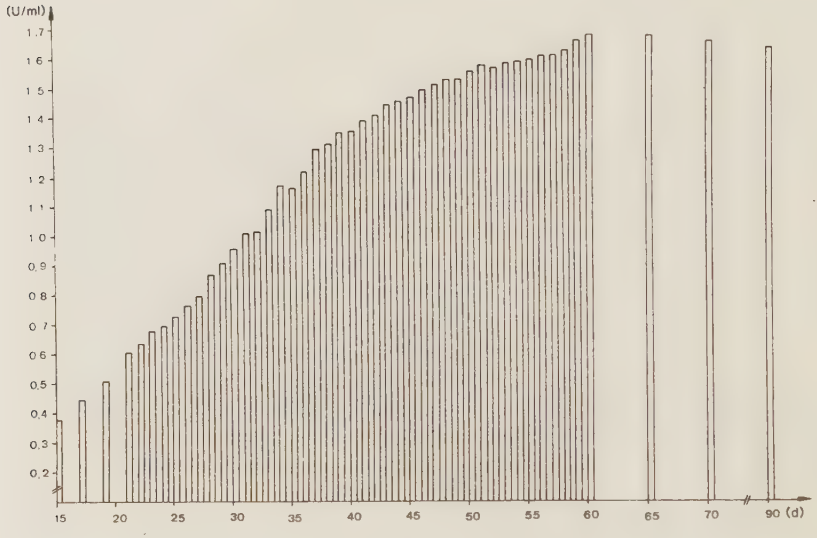


Abb.7: Verlauf der SM-Aktivität im Plasma weiblicher Albino-Wistar-Ratten zwischen dem 15. und 90. Tag

Vergleicht man Abb.5 und 6 mit Abb.8, so fällt die deutliche Übereinstimmung der zeitlichen Lage der Maxima für die Änderung der SM-Aktivität pro Tag bzw. der Gewichtszunahme pro Tag - jeweils gemittelt über ein 10-Tages-Intervall - auf.
Was sich schon bei einem direkten Vergleich der Abb.7 und Abb.3 abzeichnet, wird durch die 1. mathematische Ableitung der Plasma-SM-Aktivität in Abb.8 und Abb.6 bzw. Abb.7 für den Zusammenhang Nasen-Schwanz-Länge/SM-Aktivität für die Zeit nach dem 40. Tag bis zum Ende des Untersuchungszeitraumes am 90. Tag signifikant. Sowohl die SM-Aktivität als auch die Nasen-Schwanz-Länge zeigen in diesem Zeitintervall in der graphischen Darstellung einen

abflachenden Verlauf bzw. streben in ihren mathematischen Ableitungen gegen Null.

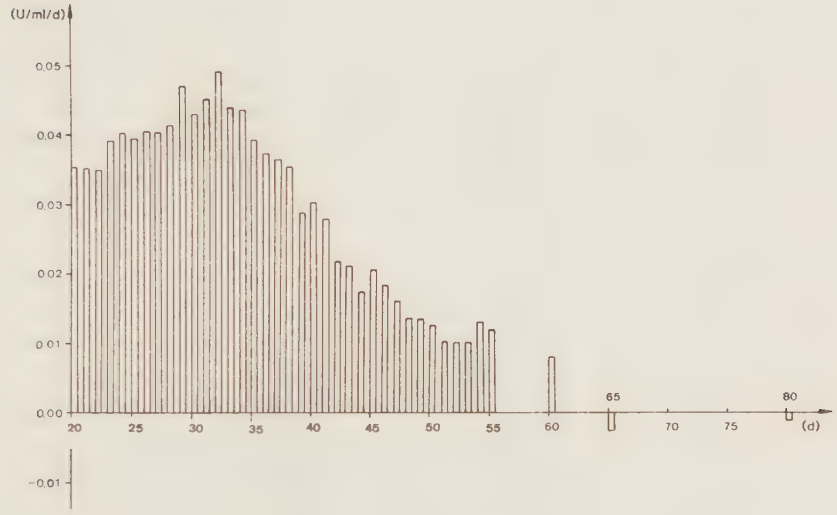


Abb.8: Graphische Darstellung der 1. mathematischen Ableitung der Plasma-SM-Aktivität zwischen dem 15. und 90. Tag

3.3. Wachstumshormon

Die Untersuchung des Verlaufs der GH-Konzentration in dieser wie in einer Parallelstudie (STÖTZLE, 1982) erbrachte für männliche und weibliche Albino-Wistar-Ratten das Ergebnis einer deutlichen qualitativen und quantitativen Übereinstimmung der Plasma-GH-Werte zwischen dem 15. und 90. Alterstag der untersuchten Tiere.

Bei beiden Geschlechtern, besonders deutlich aber bei männlichen Ratten, liegt bis etwa zum 50. Tag eine nur gering von Anfangswerten (5,6 ng/ml am 15. Tag) ansteigende GH-Konzentration vor, die über den erwähnten Zeitraum hin im wesentlichen konstant

bleibt und gegen Ende dieses Altersabschnittes Werte von rund 10 ng/ml erreicht. In einem nachfolgenden Intervall von etwa 10 Tagen steigt die Plasma-GH-Konzentration sprunghaft auf Maximalwerte von ca. 52 ng/ml an, die jedoch bereits am 60. Tag wieder auf Werte, wie wir sie zu Beginn des Untersuchungszeitraumes fanden, abgefallen ist. Gegen Ende des Versuchszeitraumes spielen sich die GH-Konzentrationen offensichtlich auf einem konstanten Niveau von rund 14 ng/ml ein.

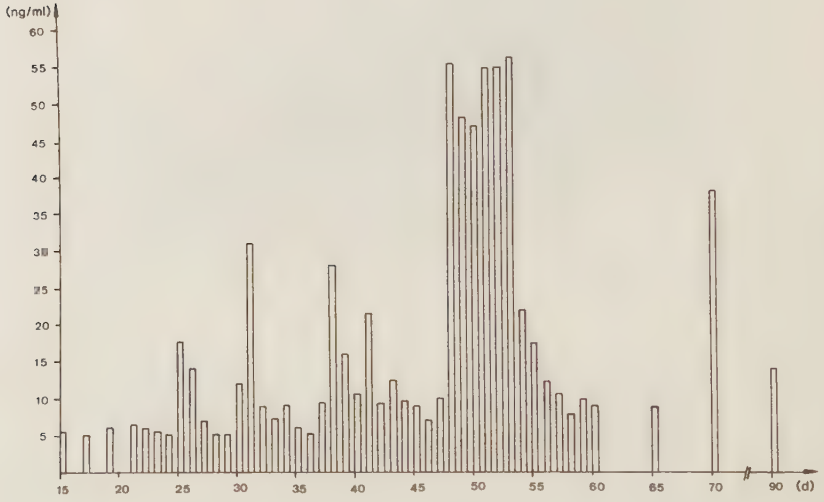


Abb.9: Verlauf der GH-Konzentration im Plasma weiblicher Albino-Wistar-Ratten zwischen dem 15. und 90. Tag

3.4. Insulin

Die von uns für das Hormon Insulin gefundenen Werte belegen einen geringgradigen Konzentrationsanstieg von Anfangswerten am 15. Tag mit 10,0 µU/ml auf Werte von etwa 26,0 µU/ml am 42. Tag. Danach beschleunigt sich der Anstieg und erreicht am 55. Tag ein Maximum des Plasmahormonspiegels mit 59,5 µU/ml. Nach dem 59. Tag aber

fallen bereits die gefundenen Werte wieder und stellen sich bis zum Ende des Untersuchungszeitraumes auf ein konstantes Niveau von ca. 25,0 µU/ml ein.

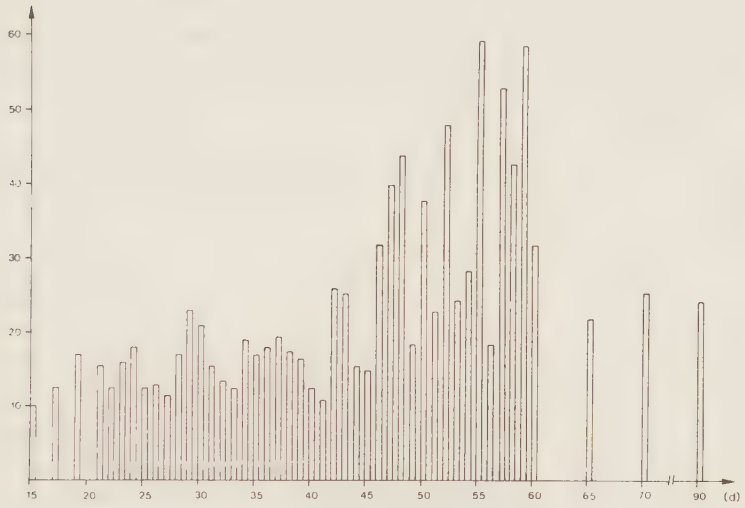


Abb.10: Verlauf der Insulin-Konzentration im Plasma weiblicher Albino-Wistar-Ratten zwischen dem 15. und 90. Tag

3.5. Dehydroepiandrosteron

Die graphische Darstellung des Verlaufs der DHEA-Werte im Plasma weiblicher Wistar-Ratten zwischen dem 15. und 90. Alterstag zeigt eine auffallende Zweiteilung, die ihre Entsprechung findet in der Darstellung analoger Werte männlicher Tiere (STÜTZLE, 1982).
Zwischen dem 15. und 35. Tag liegt ein für beide Geschlechter qualitativ nahezu identischer Verlauf vor. Die DHEA-Konzentration weiblicher Tiere fällt in dieser Zeit von 67,6 ng/dl am 17. Tag auf 0,0 ng/dl am 23. Tag ab. Bis zum 36. Tag ist danach im Plasma der untersuchten

Tiere kein DHEA nachweisbar. Der starke Anstieg der DHEA-Konzentration am 37. Tag markiert den Beginn des oben bereits erwähnten zweiten Abschnittes und führt zu Maximalwerten von 151 ng/dl am 44. Tag. Danach setzt ein kontinuierlicher Abfall auf den Wert Null am 58. Tag ein. Von diesem Tag an bis zum Ende des Untersuchungszeitraumes war kein DHEA im Plasma weiblicher Ratten nachzuweisen.

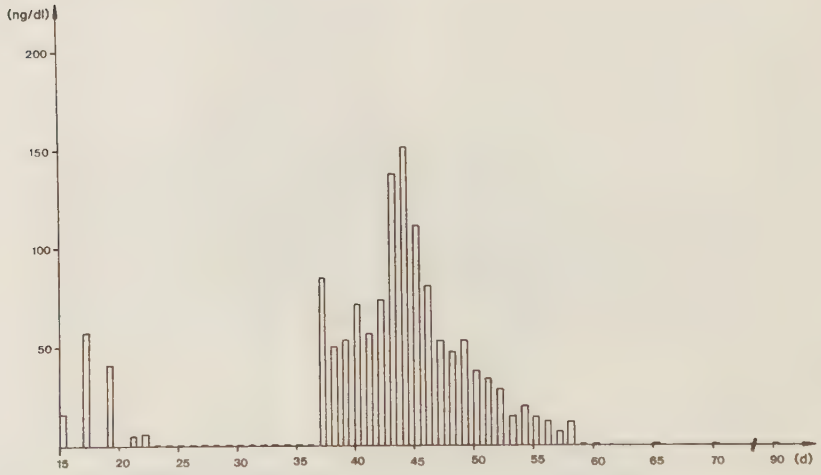


Abb.11: Verlauf der DHEA-Konzentration im Plasma weiblicher Albino-Wistar-Ratten zwischen dem 15. und 90. Tag

3.6. Testosteron

Die bereits in 3.5. festgestellte Charakteristik des initialen DHEA-Hormonverlaufs zeigt sich auch für Testosteron in weiblichen wie in männlichen (STÜTZLE, 1982) Ratten zwischen dem 15. und 30. Tag.
Bei weiblichen Tieren fällt die Testosteron-Konzentration von 80 ng/dl am 15. Tag auf Werte unterhalb der RIA-Sensitivität am 28. Tag. Bis zum 31. Tag ist danach kein

Testosteron nachweisbar, lediglich um den 37. Alterstag fanden wir Hormonmengen von maximal 80,5 ng/dl, die aber bis zum 43. Tag wieder vollständig verschwinden. Mit dem 45. Tag setzt ein Anstieg des Testosteronspiegels ein, der am 55. Tag mit Werten von 121 ng/dl sein Maximum erreicht, bis zum 60. Tag jedoch schon wieder auf Konzentrationswerte um 42 ng/dl abgefallen ist. Da diese Werte bis zum Ende des Untersuchungszeitraumes konstant bleiben, kann davon ausgegangen werden, daß sie den Level erwachsener weiblicher Tiere widerspiegeln.

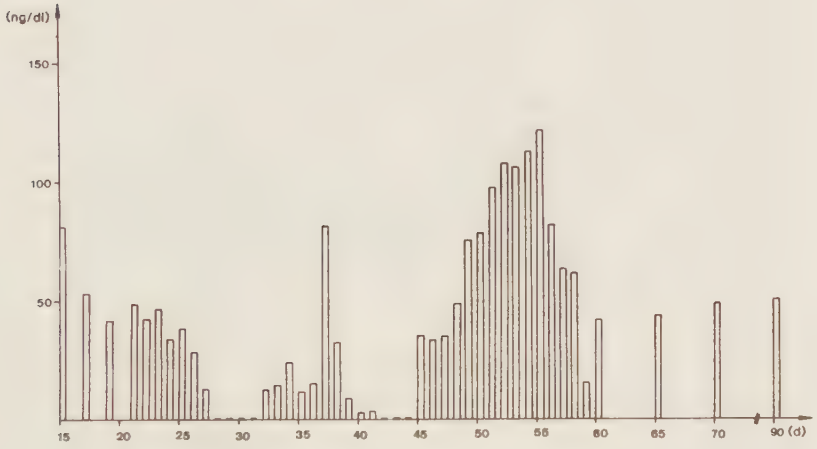


Abb.12: Verlauf der Testosteron-Konzentration im Plasma weiblicher Albino-Wistar-Ratten zwischen dem 15. und 90. Tag

3.7. Östradiol

Im Anfangsstadium des Untersuchungszeitraumes zeigt die Kurve der E_2-Konzentrationen im Plasma weiblicher Ratten einen stark abfallenden Verlauf, wobei die Konzentrationen von 3,9 ng/dl am 15. Tag auf 1,28 ng/dl am 35. Tag absinken. Danach steigt die Östradiol-Konzentration

merklich an und weist am 44. Tag mit 2,9 ng/dl ihr erstes Maximum auf, fällt danach aber sogleich bis zum 48. Tag auf 1,7 ng/dl ab. Nach dem 49. Tag nimmt die E_2-Konzentration erneut rasch zu und erreicht mit 5,2 ng/dl am 59. Tag ihr endgültiges Niveau, das sich bis zum 90. Tag, dem Ende des Untersuchungszeitraumes, nicht merklich ändert und, analog zu Testosteron, als der Östradiol-Spiegel erwachsener weiblicher Tiere angesehen werden kann.

Inwieweit entgegen den Angaben der Fa. Wien Laboratories bei der Bestimmung neben Östradiol noch andere Steroide, vor allem Östriol (E_1), radioimmunologisch erfaßt wurden, vermögen wir konkret nicht zu sagen. Wir glauben jedoch, daß die relativ hohen Konzentrationswerte um den 35. Tag durch eine entsprechende Kreuzreaktion verursacht sein dürften.

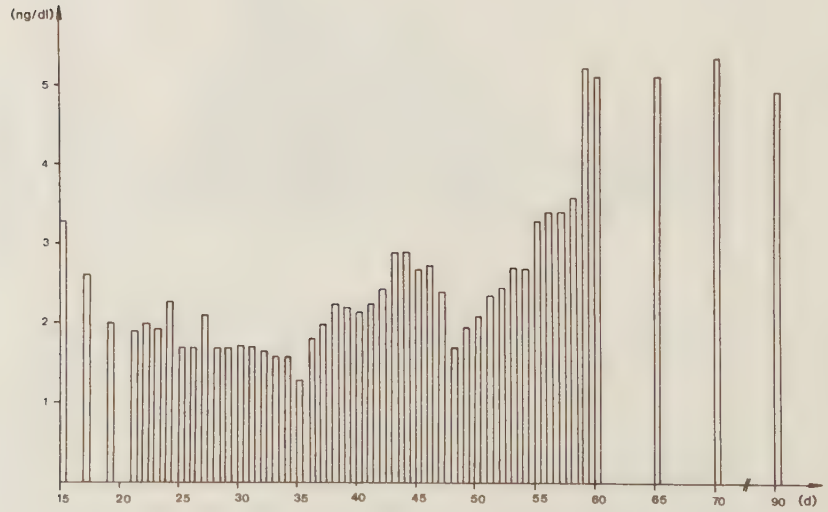


Abb.13: Verlauf der Östradiol-Konzentration im Plasma weiblicher Albino-Wistar-Ratten zwischen dem 15. und 90. Tag

3.8. Prolaktin

Der Verlauf bzw. die Darstellung der Prolaktin-Konzentrationen im Plasma weiblicher Wistar-Ratten zwischen dem 15. und 90. Tag zeigt erneut die bereits besprochenen Charakteristika.

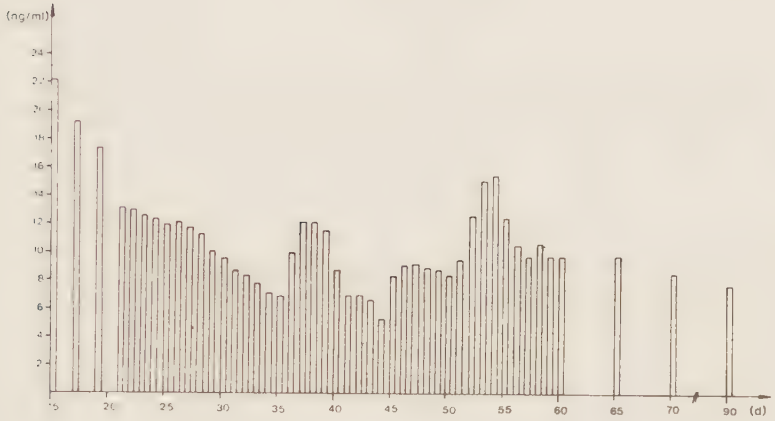


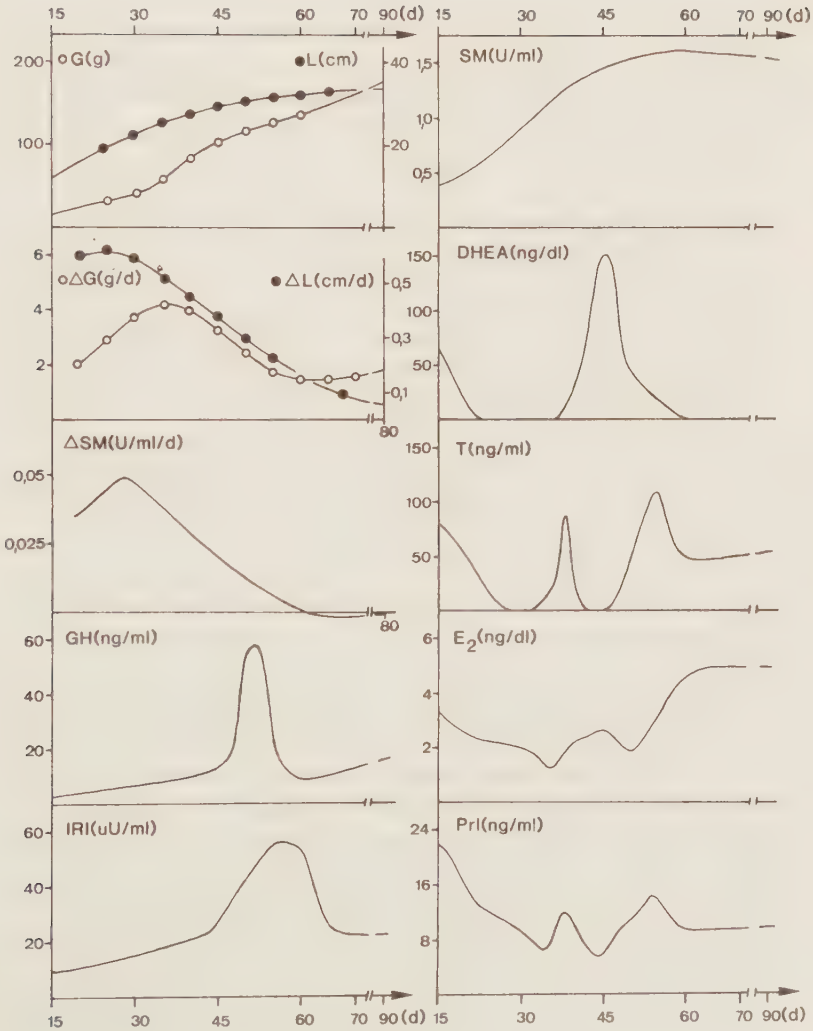
Abb.14: Verlauf der Prolaktin-Konzentration im Plasma weiblicher Albino-Wistar-Ratten zwischen dem 15. und 90. Tag.

Auch für Prolaktin findet sich ein deutlicher initialer Abfall, der, ausgehend von Anfangswerten am 15. Tag mit 22,2 ng/ml, bei weiblichen Tieren am 35. Tag seinen Minimalwert mit 7,0 ng/ml erreicht. Bei beiden Geschlechtern (STÜTZLE, 1982) folgt ein Anstieg der Prolaktin-Konzentrationen, zum ersten Maximum am 38. Tag mit 12,2 ng/ml bei weiblichen Ratten. Zwischen dem 38. und 54. Tag sinkt die Prolaktin-Konzentration, steigt aber am 54. Tag nochmals auf Maximalwerte von 15,6 ng/ml an. Danach findet sich bei weiblichen Tieren vom 56. Tag an bis zum Ende des Untersuchungszeitraumes eine nur unwesentlich sich ändernde Prolaktin-Konzentration im

Plasma, bei männlichen Tieren sinkt sie dagegen erneut auf Minimalwerte ab. Das erreichte Endniveau liegt für weibliche Ratten bei durchschnittlich 9,0 ng/ml.

Abb.15: Synopsis der Werte von Meßparametern während der Entwicklung weiblicher Albino-Wistar-Ratten zwischen dem 15. und 90. Tag →

Dargestellt sind:
Gewicht, Nasen-Schwanz-Länge, Gewichts- und Längenwachstumsgeschwindigkeit, 1. mathematische Ableitung der Somatomedin-Konzentration, Wachstumshormon, Insulin, Somatomedin, Dehydroepiandrosteron, Testosteron, Östradiol, Prolaktin
(Alle Abkürzungen: siehe tabellarischer Anhang)


15 30 45 60 70 90(d)
oG(g)
●L(cm)
200
100
40
20
oΔG(g/d)
●ΔL(cm/d)
6
4
2
0,5
0,3
0,1
80
ΔSM(U/ml/d)
0,05
0,025
GH(ng/ml)
60
40
20
IRI(uU/ml)
SM(U/ml)
1,5
1,0
0,5
DHEA(ng/dl)
150
100
50
T(ng/ml)
E2(ng/dl)
24
16
8
Prl(ng/ml)

4. Diskussion

Im nachfolgenden Kapitel sollen die gefundenen Ergebnisse besprochen und einer kritischen Diskussion in Gegenüberstellung zu bekannten Befunden der Literatur unterworfen werden.
Bezugnehmend auf die einleitend postulierte Fragestellung sei dieses Kapitel nach folgenden, zu erörternden Gesichtspunkten gegliedert:

- Das Wachstum der weiblichen Albino-Wistar-Ratte im Spiegel der Entwicklung von Körpergewicht und Nasen-Schwanz-Länge.
- Der Verlauf der Hormone GH, Somatomedin und Insulin zwischen dem 15. und 90. Alterstag und ihre mögliche Funktion bei der Steuerung des Wachstums.
- Der Verlauf der Hormone DHEA, Testosteron, Östradiol und Prolaktin zwischen dem 15. und 90. Alterstag und ihr Einfluß auf das Wachstumsgeschehen.

Wachstum als dem neben der sexuellen Reifung fundamentalen Entwicklungsprozeß des tierischen Organismus läßt sich quantitativ wie qualitativ am sichersten durch die gleichzeitige Messung der Gesamtkörperlänge - in unserem Falle der Nasen-Schwanz-Länge - und des Körpergewichts erfassen. Wir haben solche Messungen an weiblichen Albino-Wistar-Ratten zwischen dem 15. und 90. Alterstag überwiegend in Tagesabständen durchgeführt. Danach läßt sich sowohl für das Körpergewicht als auch die Nasen-Schwanz-Länge eine kontinuierliche Zunahme über die gesamte Dauer des Untersuchungszeitraumes belegen. Die auf Grund der sigmoidalen Verlaufsform der Körpergewichtsentwicklung bereits geäußerte Vermutung, diese Größe besitze einen Zeitpunkt größter Zunahme, bestätigt sich in überzeugender Weise. Die graphische Darstellung der Körpergewichtswachstumsgeschwindigkeit in Abb.5 besitzt um den 35. bis 40. Tag einen ausgeprägten Peak, den Zeitpunkt maximaler Gewichtszunahme pro Tag

belegend.
Qualitativ vergleichbare bzw. übereinstimmende Ergebnisse für Gewichtswerte bei männlichen Ratten finden sich bei SWERDLOFF et al., 1971; der die größte Wachstumsgeschwindigkeit vor dem 49. Tag fand, bei HILDEBRANDT, 1981; der das Altersintervall 40. bis 45. Tag als Lebensabschnitt maximaler Gewichtszunahme anführt, und STÜTZLE, 1982; bzw. RANKE et al., 1981; die mit unseren Ergebnissen übereinstimmende Werte für beide Parameter bei männlichen Tieren angeben.
Wie sich auch an Hand noch zu diskutierender Werte unserer Arbeit zeigt, differenziert sich der Ablauf des Wachstums in dem von uns untersuchten Altersintervall somit qualitativ in drei charakteristische Abschnitte: die initiale Phase niedriger, allmählich aber steigender Körpergewichtswachstumsgeschwindigkeit, den nachfolgenden Wachstumsschub maximaler Gewichtszunahme pro Tag und die den Untersuchungszeitraum beendende Phase einer nahezu konstanten, geringen täglichen Gewichtszunahme.

Ist zwar die Übereinstimmung der vorliegenden Werte beachtlich, so läßt sich doch an Hand der von uns erstmals durchgeführten parallelen Erfassung der Nasen-Schwanz-Länge und der im Vergleich mit den Werten des Körpergewichts nachweisbaren qualitativen Unterschiede demonstrieren, daß Wachstum ein beide Größen unterschiedlich stark erfassender Vorgang ist. Analog zu einer Parallelstudie für männliche Ratten von STÜTZLE (1982) zeigt sich auch bei weiblichen Tieren, daß es, im Gegensatz zum kontinuierlichen Abfall der Längenwachstumsgeschwindigkeit von anfänglichen Maximalwerten auf Werte von Null, in der Entwicklung der Körpergewichtswachstumsgeschwindigkeitswerte ein deutliches Maximum um den 35. bis 40. Tag und später ein Plateau nach dem 55. Tag gibt. Dies deckt sich mit der vergleichenden Analyse der Kurven für Körpergewicht und Nasen-Schwanz-Länge in Abb.4. Auch hier liegt eine stetige, nach der Phase des Wachstumsschubes nur geringgradig verlangsamte Zunahme des Körpergewichts bei gleichzeitiger deutlicher Abflachung

der Kurve für die Nasen-Schwanz-Länge vor.

Wurde Wachstum in den bisher vorliegenden Arbeiten lediglich an Hand von Körpergewichtswerten beschrieben und interpretiert, so glauben wir auf Grund unserer Ergebnisse sagen zu dürfen, daß es sich bei diesem Vorgang vielmehr um ein komplexes, multifaktoriell bedingtes Geschehen handelt, welches beide Parameter zeitlich verschieden stark beeinflußt und zu entsprechenden qualitativen Verschiebungen in ihrem Verlauf führt. Stark vereinfachend könnte danach also von Phasen vorrangigen Körpergewichts- bzw. Phasen vorrangigen Längenwachstums gesprochen werden. So scheint zwischen dem 35. und 40. bzw. nach dem 55. Tag die Gewichtszunahme bei weiblichen Ratten dominierend, das davon eingeschlossene Intervall vor allem durch die Längenzunahme der Tiere charakterisiert zu sein.

Erlaubt die Diskussion der Werte für Körpergewicht und Nasen-Schwanz-Länge lediglich Aussagen über äußere Veränderungen bei weiblichen Ratten, so soll nun der Versuch unternommen werden, die Beziehungen in ihrem möglichen kausalen Zusammenhang zu deuten.

Nach den Forschungsergebnissen von DICKERMAN et al., 1972; STROSSER und MIAHLE, 1975; BLAZQUEZ et al., 1974; und YAMAMOTO et al., 1970; sind GH und Somatomedin sowie das von verschiedenen Autoren (DAUGHADAY et al., 1976; HILDEBRANDT, 1981) untersuchte Insulin als hormonelle Faktoren primär für die Wachstumsvorgänge bei Mensch und Tier verantwortlich. Das von der Hypophyse sezernierte Wachstumshormon stellt davon das zentrale Hormon dar, dessen Wirkung durch eine GH-konzentrationsabhängige Ausschüttung des Mediators Somatomedin auf das Endorgan, die Epiphysenfugen vermittelt wird.

Die im Rahmen dieser Arbeit ermittelten Werte für GH und Somatomedin ergeben für das Wachstumshormon bis zum 47. Tag einen geringgradigen Konzentrationsanstieg, um dann sprunghaft Maximalwerte von ca. 55 ng/ml um den 50. Tag zu erreichen. Nach dem 55. Tag sind erneut niedrige,

mit denen des anfänglichen Niveaus vergleichbare Werte zu finden.
Im Gegensatz zu GH weist der Verlauf der Hormonkonzentrationen für Somatomedin eine größere Kontinuität auf, sichtbar vor allem am stetigen Anstieg der gemessenen Werte in Form einer sigmoidalen Kurve bis zum 60. Tag. Bis zum Ende des Untersuchungszeitraumes am 90. Tag findet danach ein geringer Abfall statt.

Das Bemühen, die Verlaufsformen für GH und Somatomedin, wie wir sie bei weiblichen Ratten fanden, zu interpretieren und zueinander in Beziehung zu setzen, scheint auf den ersten Blick wenig erfolgversprechend, weisen doch beide Verläufe kaum Analogien auf. Dem dennoch hier unternommenen Versuch einer Interpretation seien die Ergebnisse von KOSTYO und ISAKSSON (1977) vorausgeschickt, die gerade in Zeiten niedrigster GH-Werte die deutlichste Abhängigkeit somatischen Wachstums von diesem Parameter fanden. Dies belegt einen auch in anderen Bereichen endokrinologischer Forschung nachgewiesenen Sachverhalt, der die Tatsache beschreibt, daß hormonelle Effekte am Erfolgsorgan über die Konzentration des Hormones hinaus zugleich auch von der spezifischen Empfindlichkeit entsprechender Rezeptorstrukturen ihres Zielorgans determiniert sind.

Eine solche, hohe Rezeptorempfindlichkeit für Wachstumshormon könnte danach in der ersten, sich vom 15. bis 45. Tag erstreckenden Phase für die deutliche Zunahme der Somatomedinkonzentrationen bei nur gering ansteigendem GH-Spiegel verantwortlich sein. Gegen Ende dieses Altersabschnittes scheint sich die Empfindlichkeit spezifischer Gewebsstrukturen auf GH zu verringern, was bei offensichtlicher Konstanz der Regelgröße Wachstum einen entsprechenden, um den 50. Tag stattfindenden Anstieg der GH-Konzentrationen nötig machen würde. Der solchermaßen geregelte kontinuierliche Verlauf der Somatomedinwerte würde dann den Fortgang des Wachstums garantieren.
Die bisher wiedergegebenen Werte für das Wachstumshormon

bei weiblichen Ratten korrelieren gut mit den von RANKE et al., 1981; veröffentlichten Ergebnissen, der ebenfalls (dort bei männlichen Ratten) GH-Maximalwerte um den 50. bis 55. Tag und einen sigmoidalen, auch quantitativ ähnlichen Somatomedin-Anstieg nachwies. Weitere Literaturangaben sind zum Teil widersprüchlich: STUART et al., 1976; will einen postnatalen Abfall der GH-Werte bis zum 40. Tag, STROSSER und MIAHLE, 1975; einen Anstieg bis zum 80. Tag, DICKERMAN et al., 1972; einen Anstieg lediglich bis zum 60. Tag gefunden haben, dem danach ein Verlauf auf konstantem Niveau folgen soll. Im Vergleich zum Menschen treten deutliche Parallelen zu Tage: Eine Reihe von Autoren (FINKELSTEIN et al., 1972; PARLOW, 1973; KANTERO et al., 1975) sprechen nach zum Teil andersartigen Messungen bzw. Versuchsbedingungen von einem, wenn auch stärker ausgeprägten pubertären Anstieg der GH-Konzentrationen im Blut, was sich qualitativ mit der beschriebenen Entwicklung für das Wachstumshormon bis zum 50. Tag decken würde.

Für die vermutete Sensitivitätsänderung entsprechender GH-Rezeptoren an Somatomedin-sezernierenden Zellen, vor allem denen der Leber, spricht auch der Insulinverlauf bis zum 45. Tag in den von uns untersuchten Tieren. Auch dieser weist in auffallender Parallelität zur GH-Entwicklung einen geringen Anstieg bis zum 43. Tag auf Werte von 25 µU/ml auf. Damit wäre durch die Entwicklung dieses Hormones, selbst wenn man eine gleichberechtigt-synergistische Wirkung zu GH annimmt, wie sie DAUGHADAY et al., 1976; PHILLIPS und YOUNG, 1976 a/b; und PHILLIPS und ORAWSKI, 1977; postulieren, die rasche Zunahme der Somatomedin-Konzentration allein nicht zu erklären.

Sollte nicht ein weiterer, bislang noch unbekannter hormoneller Faktor entdeckt werden, der neben GH und Insulin die Somatomedin-Ausschüttung steuert, so scheint uns auf Grund unserer Ergebnisse die angenommene Empfindlichkeitsänderung entsprechender Rezeptoren an Somatomedin-freisetzenden Zellen die wahrscheinlichste, die Beziehung Wachstumshormon-Insulin-Somatomedin bis

etwa zum 50. Tag überzeugend erklärende Hypothese zu sein. Parallel zu GH müßte danach auch Insulin nach dem 45. Tag einen deutlichen, die nachlassende Rezeptorempfindlichkeit ausgleichenden Anstieg aufweisen. Dies belegen die von uns gefundenen Werte in Abb.10 anschaulich. Zeitlich nur gering gegen GH versetzt, fanden wir einen raschen Insulin-Anstieg auf Maximalwerte zwischen dem 55. und 60. Tag. Dieses Maximum liegt zu einem Zeitpunkt vor, an dem die GH-Konzentrationen bereits wieder stark gefallen sind und nahezu Werte des anfänglichen Niveaus um den 20. Tag erreicht haben. Nach dem 60. Tag sinken Insulin und, nur in wesentlich geringerem Maße, auch Somatomedin. Daß zu diesem Zeitpunkt eine nochmalige Sensitivitätsänderung stattfindet, scheint uns, befinden sich doch die Tiere, wie später noch zu zeigen ist, nahezu am Ende ihrer Pubertät, nicht wahrscheinlich. HILDEBRANDT (1981) glaubt vielmehr, daß Insulin in dieser Phase das vorrangige Stimulans für die Somatomedin-Ausschüttung darstellt, da dieses Hormon nach seinen Ergebnissen bei entsprechend alten Tieren hohe Plasmakonzentrationen aufwies. Inwieweit gegen Ende der Pubertät eine Prioritätenverschiebung zwischen Insulin und GH stattfindet, vermögen wir nicht zu sagen, es scheint aber zweifellos eine fortgesetzt synergistische, sich additiv überlagernde Wirkung beider Hormone zu bestehen.
Zusammenfassend ergäbe sich daraus das Bild eines Regelkreises, in dem das Wachstumshormon und Insulin die Somatomedin-Ausschüttung positiv steuernd beeinflussen, Somatomedin aber vermutlich durch eine negative Rückkoppelung die GH-Freisetzung reguliert.

Scheint uns so die Beziehung GH - Somatomedin im Rahmen der uns zur Verfügung stehenden Ergebnisse unter besonderer Berücksichtigung des Insulin schlüssig erklärt, gilt es nun, die Beziehung Somatomedin - Wachstum zu beleuchten. Auffallend ist die Übereinstimmung der entsprechenden graphischen Darstellungen, wie sie in Abb.4 zu Tage tritt: Parallel zum Fortgang der Somatomedin-Konzentration steigen die Wachstumsparameter

Länge und Gewicht. Auch die Körpergewichtswachstumsgeschwindigkeit als zeitliche Ableitung der Körpergewichtswerte korreliert anschaulich mit der ersten mathematischen Ableitung für die Somatomedin-Konzentrationen, die für beide Größen um den 35. Tag Maximalwerte ergibt. An Hand unserer Werte glauben wir auch in quantitativer Hinsicht die bereits 1959 von DAUGHADAY beschriebene wachstumssteuernde Funktion des Somatomedin stützen zu können. Inwieweit über die anschaulich bestehende Proportionalität zwischen SM-Konzentration und den Wachstumsparametern Länge und Gewicht hinaus noch ein direkter Einfluß des Insulin auf das Wachstumsgeschehen vorhanden ist, vermögen wir im Rahmen dieser Arbeit nicht zu sagen. Eine entsprechende Studie von SALTER uns BEST (1953), welche die direkte wachstumsstimulierende Wirkung des Insulin belegt, ist uns aber bekannt, ebenso die Untersuchungen von STUART et al., 1976.
Darauf basierend wäre auch auf dieser Ebene der Wachstumsregulation ein Steuerungsmodus denkbar, der in der synergistischen Wirkung der Hormone Somatomedin und Insulin besteht. Ob, und wenn ja, in welchem Maße das Wachstumsgeschehen an den Epiphysenfugen rückwirkend die Hormonkonzentrationen zu beeinflussen vermag, kann nach dem heutigen Wissensstand nicht gesagt werden.

Die klinische Situation beim Menschen vermag die von uns beschriebenen Verhältnisse zu bestätigen: Unter Normalbedingungen liegt beim Menschen zwischen dem 4. und 14. Lebensjahr eine Somatomedin-Verlaufsform vor, die der bei Ratten beschriebenen entspricht (ALMQUIST et al., 1961; TATO et al., 1975). Unter pathologischen Verhältnissen bei Diabetes mellitus tritt die Insulin-Wirkung in Zusammenhang mit dem Wachstumsgeschehen in den Vordergrund (POND, 1970; BIRBECK, 1972; PHILLIPS und ORAWSKI, 1977).
Neben der körperlichen, Länge und Gewicht stark verändernden Entwicklung durchläuft die weibliche Ratte in dem von uns untersuchten Lebensabschnitt eine Phase stärkster hormoneller Umstellung und rascher sexueller Reifung - ihre

Pubertät. Nachfolgend sollen deshalb im Anschluß an die Besprechung der Wachstumsvorgänge und ihrer endokrinen Regulation die Verlaufsformen der peripheren Hormone DHEA, Testosteron, Östradiol und Prolaktin diskutiert werden. Daran anschließend sei der Versuch unternommen, die Beziehungen dieser Hormone zum Wachstumsgeschehen und dessen hormoneller Steuerung zu analysieren.

Nach unseren Werten fällt die Testosteron-Konzentration vom 15. bis zum 27. Tag kontinuierlich auf Werte unterhalb der RIA-Sensitivität ab. Erst nach dem 32. Tag läßt sich wieder Testosteron nachweisen, am 37. Tag einen 1. Maximalwert erreichend. Ein 2., höherer Maximalwert ist am 55. Tag zu finden, vom ersten durch einen deutlichen Nadir um den 44. Tag getrennt. Nach dem 55. Tag fallen die Hormonwerte bis zum 60. Tag und erreichen zu diesem Zeitpunkt den adulten, nahezu konstanten Endwert.

Zahlreichen in der Literatur publizierten Arbeiten ist gemeinsam, daß zu Beginn der Pubertät der Testosteron-Spiegel in Ratten deutlich ansteigt (RESKO et al., 1968; GROTA, 1971; MIYACHI et al., 1973; ODELL et al., 1974; DÖHLER und WUTTKE, 1975; GUPTA et al., 1975 a/b/c; SMITH et al., 1977). Altersdifferenzen für den Beginn des Testosteron-Anstieges (Angaben: 25. bis 40. Tag) dürften vor allem auf Unterschieden im Bereich des Tiermaterials und der Tierhaltung beruhen. Für die postpubertäre Lebensphase werden verschiedenartige, teils kontinuierlich ansteigende (LEE, 1975 a; MIYACHI et al., 1973), teils stagnierende bzw. geringgradig abfallende Verläufe (GROTA, 1971; GUPTA et al., 1975 a/b; DE JONG und SHARPE, 1977; SMITH, 1977; RANKE et al., 1981; STÜTZLE, 1982) angegeben. FAIMAN und WINTER (1974) haben in der klinischen Untersuchung zu unseren Ergebnissen analoge Konzentrationen gefunden. Präpubertär niedrige Testosteron-Werte stiegen nach dem 10. Lebensjahr beim Mädchen stark an und erreichten mit dem Ende der Pubertät konstante Niveaus, die aber deutlich unter denen der Knaben lagen.

Im Gegensatz zu Testosteron finden sich zum Verlauf des DHEA im Serum von Ratten und anderen Tieren nur wenige Arbeiten in der Literatur (CUTLER et al., 1978). Dies war experimentell vor allem in der zu geringen RIA-Sensitivität begründet, die die zum Teil sehr niedrigen DHEA-Konzentrationen nicht erfaßte, weswegen nur grob qualitative Aussagen in Bezug auf den Unterschied zwischen präpubertären und pubertären Tieren möglich waren. Soweit uns bekannt ist, gelang es erstmals HILDEBRANDT 1981, ein wenn auch lückenhaftes, so doch die gesamte Pubertät erfassendes Bild des DHEA-Verlaufs in männlichen Ratten zu zeichnen. Die von uns erbrachten Werte sollen dieses Bild für weibliche Tiere vervollständigen.
Danach findet vom Beginn des Untersuchungszeitraumes, dem 15. Tag, bis zum 22. Tag ein rascher Abfall auf Werte unterhalb der RIA-Sensitivität statt. Vom 37. Tag an konnten wir im Blut entsprechend alter Tiere wieder DHEA nachweisen, welches bis zum 44. Tag auf maximale Konzentrationswerte anstieg, danach aber kontinuierlich bis zum 59. Tag auf Null abfiel.
Liefert die Literatur, wie bereits erwähnt, für DHEA-Verläufe bei Ratten nur qualitative Aussagen im punktuellen Vergleich präpubertärer und pubertärer Tiere, so finden sich doch im Vergleich unserer Werte mit klinischen Ergebnissen beim Menschen deutliche Parallelen. Dort steigt etwa vom 7. bis 10. Lebensjahr die DHEA-Syntheserate und erreicht zwischen dem 13. und 15. Lebensjahr Maximalwerte. Mit dem Ende des pubertalen Geschehens stellen sich beim Menschen Plateauwerte ein. Diese manifestieren geschlechtsspezifische Charakteristika, die sich deutlich in ihrer Höhe und damit in ihrer genitalen wie extragenitalen Wirkung bei Mann und Frau unterscheiden (HOPPER und YEN, 1975; LEE und MIGEON, 1975; SIZONENKO und PAUNIER, 1975; DUCHARME et al., 1976; KORTH-SCHUTZ et al., 1976; REITER et al., 1977).

Neben Testosteron und DHEA stellt das von uns untersuchte Östradiol einen weiteren Vertreter aus der

zahlreichen Familie der Steroidhormone dar. Neben der großen strukturchemischen Ähnlichkeit dieser vom Pregnenolon abgeleiteten Verbindungen und ihrer gemeinsamen Produktionsstätten weisen ihre Konzentrationsverläufe über den untersuchten Zeitraum hin auch große qualitative Übereinstimmungen auf.
Analog zu den bereits besprochenen Hormonen fallen die Östradiol-Werte präpubertär vom 15. bis zum 35. Tag, steigen danach bis zum 43. Tag auf ein erstes, bis zum 60. Tag auf ein zweites Maximum, voneinander entsprechend dem Testosteron-Verlauf durch einen Nadir am 48. Tag getrennt. Die Konzentrationswerte am 60. Tag markieren zugleich auch das postpubertäre Niveau, welches bis zum 90. Tag nur unwesentlich sinkt.

Östradiol gehört, wohl wegen seiner zentralen Bedeutung für die sexuelle Reifung des weiblichen Organismus, zu den bevorzugt untersuchten Hormonen, jedoch liegen für Ratten nur Arbeiten vor, die den longitudinalen Konzentrationsverlauf bis zum 22. bzw. 39. Tag postnatal beschreiben (FRAWLEY und HENRICKS, 1979; HACIK, 1978). Übereinstimmend mit unseren Ergebnissen berichten diese Autoren von einem postnatalen bzw. präpubertären Abfall, danach aber von einem deutlichen Anstieg der E_2-Konzentrationen, bei HACIK bis zum 39. Tag, dem Ende seines Untersuchungszeitraumes. Längerdauernde, die gesamte Pubertät erfassende Untersuchungen des Östradiol-Verlaufs sind uns für weibliche Ratten nicht bekannt.
Zeitliche Veränderungen der Plasma-E_2-Konzentrationen sind beim Mädchen klinisch im Rahmen ihrer pubertalen Entwicklung vielfältig bestimmt worden. Die postnatalen Östradiol-Werte fallen demzufolge nach dem 4. Lebensmonat auf ein präpubertäres Minimalniveau. Mit dem Einsetzen der Pubertät steigt der Östradiol-Spiegel dann stetig an, bis es zur kompletten Ausreifung von Follikel kommt, die Menarche eintritt und sich im Laufe der Zeit ein regelrechter ovulatorischer Zyklus einstellt

(KELLER et al., 1980).
Trotz seiner Andersartigkeit in Bezug auf Herkunft und chemische Struktur weist auch Prolaktin einen zeitlichen Verlauf auf, der große Ähnlichkeit mit dem des Östradiols, aber auch dem des Testosteron besitzt.

Postnatal fallen die Prolaktin-Konzentrationen von 15. bis zum 35. Tag, steigen anschließend bis zum 38. Tag auf Maximalwerte an und sinken danach bis zum 44. Tag auf absolute Minimalwerte. Über ein zweites Maximum am 54. Tag stellen sich schließlich nahezu konstante Hormonspiegel ein, die in ihrer Höhe etwa dem Wert des 35. Tages entsprechen.
Obwohl Prolaktin eines der ersten gereinigten Peptidhormone war und mehr als 80 verschiedene Wirkungen dieses Hormons bekannt sind (NICOLL und BERN, 1972), liegen jedoch keine longitudinalen Studien über den Prolaktin-Verlauf bei Mensch und weiblicher Ratte in der Pubertät vor. Auch sind trotz der experimentell nachgewiesenen Wirkungen die Hauptfunktionen des Prolaktin im Körper der Frau nicht bekannt, sieht man einmal von der Beteiligung an der hormonellen Regulation der Schwangerschaft und der Laktation im weiblichen Organismus ab. Der Vergleich mit Literaturangaben zeigt, daß der von uns gemessene Verlauf gut mit den Ergebnissen von NEGRO-VILAR et al., (1973) und DÖHLER und WUTTKE (1974/1975) für männliche Ratten übereinstimmt.
Auf Grund der von uns gefundenen qualitativen Übereinstimmungen zwischen der zeitlichen Entwicklung der Hormone Testosteron, DHEA und Östradiol und auffallenden Analogien zu Ergebnissen einer Arbeit von STÜTZLE (1982) über entsprechende Hormone männlicher Ratten glauben wir die oben beschriebenen Verlaufsformen der genannten Steroidhormone als Folge der Sekretion zweier verschiedener, zeitlich versetzt produzierender Hormonquellen deuten zu können.
Beide Geschlechter weisen nämlich im Fall des typisch männlichen Hormons Testosteron einen zweiphasigen Anstieg zu adulten Endwerten auf, dessen erster Abschnitt

neben qualitativer auch quantitative Übereinstimmung zwischen männlichen und weiblichen Tieren bietet, weswegen wir ihn als geschlechtsunspezifisch bezeichnen wollen. Sehr wahrscheinlich ist das Testosteron dieses Zeitabschnittes adrenaler Herkunft. Deutliche mengenmäßige Differenzen zwischen beiden Geschlechtern treten erst in der Phase des zweiten Maximums auf. Dieses ist zwar bei beiden Geschlechtern vorhanden, liegt aber im Fall des Testosteron zu diesem Zeitpunkt wie auch der anschliessende adulte Endwert für männliche Ratten wesentlich höher als für weibliche Tiere. Das Hormon dieser Phase dürfte deshalb wohl aus pubertal differenzierten bzw. entwickelten gonadalen Organen - Testes bzw. Ovarien - stammen. Ausgehend von dieser Hypothese scheint uns die Interpretation des Testosteron-Verlaufs nun nicht mehr schwierig: Nach dem postnatalen Abfall setzt eine adrenale Hormonproduktion ein, die etwa um den 35. bis 40. Tag ihren Höhepunkt erreicht und von da an allmählich wieder abklingt. Um den 40. Tag findet zugleich aber auch die Aktivierung der gonadalen Hormonquelle statt, deren Ausschüttung bis zum 60. Tag etwa auf ihren Endwert ansteigt. Der um den 55. Tag nachweisbare Maximalwert ergibt sich demnach aus der additiven Überlagerung der Tätigkeit beider Hormonquellen, der adulte Endwert aus der konstanten, fortdauernden gonadalen Hormonproduktion, der geringgradige Abfall nach dem 55. Tag durch das allmähliche, um den 60. Tag etwa abgeschlossene Versiegen der adrenalen Hormonquelle.

Damit übereinstimmend verhält sich die Entwicklung des Östradiol. Postpubertäre Unterschiede in der Höhe der Hormonkonzentrationen dürften geschlechtsspezifische Charakteristika darstellen.

Obwohl für DHEA weiblicher Ratten nur ein Zeitpunkt maximaler Hormonausschüttung nachweisbar ist, widerspricht dies nicht der von uns geäußerten Hypothese, vielmehr scheint DHEA bei der adrenalen Testosteron-Synthese in viel höherem Maße anzufallen als bei der

gonadalen Testosteronproduktion. Die dort freigesetzten Mengen sind offensichtlich so gering, daß sie radioimmunologisch nicht mehr erfaßt werden können. Dafür spricht auch der DHEA:T - Quotient, der nach unseren Werten mit 151,6 ng/dl : 0,0 ng/dl am 44. Tag ein Maximum besitzt, danach aber stetig bis zum 59. Tag auf den Wert Null abfällt.

STÜTZLE (1982) konnte zeigen, daß männliche Tiere einen dem oben beschriebenen Mechanismus entsprechenden DHEA-Verlauf aufweisen.

Obwohl Prolaktin nach dem aktuellen Wissensstand ausschließlich hypophyser sezerniert wird, findet sich auch für dieses Hormon ein zu Testosteron, vor allem aber ein zu Östradiol analoger Verlauf, weswegen die Vermutung naheliegt, daß die Prolaktin-Ausschüttung vom Plasmaöstradiolspiegel abhängig ist.

Sollte sich in speziellen weiteren Experimenten die Richtigkeit unserer Hypothese über die zeitlich versetzte Tätigkeit der adrenalen und gonadalen Hormonquelle bestätigen, so wäre damit gezeigt, daß auch die Ratte - ähnlich dem Menschen - eine Adrenarche durchläuft, in der es zur adrenalen Hormonausschüttung bei noch ruhender Gonadentätigkeit und damit fehlender Entwicklung sekundärer Geschlechtsmerkmale kommt. Der 30. bis 35. Alterstag wäre also mit dem Beginn der adrenalen, der 40. bis 45. Tag mit dem Beginn der gonadalen Hormonproduktion und der 55. bis 60. Tag mit dem Ende der Pubertät gleichzusetzen. Danach können die Tiere als erwachsen angesehen werden.

Schwieriger als die Festlegung des Pubertätsendes erweist sich die Bestimmung des Pubertätsbeginns. Die nach heutigem Wissen wahrscheinlichste Hypothese (ODELL et al., 1967; VAN DER WERFF TEN BOSCH, 1969; KULIN et al., 1972; GUPTA et al., 1974 und 1975 b/c) besagt, daß die Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Achse zu Beginn der Pubertät einen Sensitivitätswandel erfährt, derart, daß die hypothalamischen Zellen unempfindlicher werden auf die hemmend zurückwirkenden Sexualsteroide. Folge ist eine allmähliche Einstellung des Regelkreises

auf einem höheren Niveau vermehrter Hormonproduktion und damit eine größere Menge zirkulierender Sexualsteroide im Blut. Dieser Hormonanstieg, vor allem der Hormone Testosteron und Östradiol im männlichen bzw. weiblichen Organismus und die dadurch angeregte Entwicklung der sekundären Geschlechtsmerkmale werden heute allgemein als klinische Zeichen des Pubertätsbeginns angesehen. Nach unseren Ergebnissen ist diese Situation bei den von uns untersuchten Tieren etwa am 40. Tag erreicht. Der vor diesem Tag liegende Altersabschnitt wäre dann ebenso wie der bei Tieren des entsprechenden Alters nachweisbare Wachstumsschub als präpubertär zu bezeichnen. Auf Grund unserer Ergebnisse kann die Phase maximaler Wachstumsgeschwindigkeit nicht mehr wie bisher der Pubertät zugerechnet werden. Ebenso in den präpubertären Lebensabschnitt fällt die Adrenarche, die durch die Steroidhormonausschüttung der Nebennierenrinde gekennzeichnet ist und sich nach unseren Ergebnissen vom 35. bis zum 40. Tag erstreckt.

Abschließend gilt es die Wirkung der Hormone DHEA, Testosteron, Östradiol und Prolaktin auf das Wachstumsgeschehen zu diskutieren. Wir glauben in Form der von uns gemessenen Gewichts-, Nasen-Schwanz-Längen- und Hormonkonzentrationswerte einen Beleg für die Existenz eines solchen endokrinen Einflusses auf die körperliche Entwicklung zu besitzen.

Bei der Diskussion entsprechender Werte haben wir bereits festgestellt, daß GH und Somatomedin, u.U. synergistisch unterstützt von Insulin, das Wachstum der weiblichen Albino-Wistar-Ratte im Altersintervall 15. bis 55. Tag primär steuern. Der Verlauf der einzelnen Parameter stimmt in wesentlichen Punkten überein bzw. ist kongruent; die mathematische Ableitung zur Erfassung zeitlicher Veränderungen ergibt für Körpergewicht und Somatomedin analoge Werte und die zitierten Literaturangaben bestätigen darüber hinaus unsere Aussagen.

Die Besprechung der Körpergewichts- und Nasen-Schwanz-Längenwerte erfolgte bisher jedoch stets unter bewußter

Auslassung eines Charakteristikums des Kurvenverlaufs beider Parameter, welches sich nach dem 55. Tag in der graphischen Darstellung in Abb.4 widerspiegelt und nicht überzeugend mit dem hormonellen Geschehen von GH und Somatomedin interpretiert werden kann. Beide Hormone zeigen nach diesem Tag mehr oder weniger stark fallende Tendenz, die wohl einhergeht mit der zunehmend retardierten Längenzunahme der Tiere, im Widerspruch aber zur beobachteten fortdauernden Gewichtszunahme bzw. den nahezu konstanten Gewichtswachstumsgeschwindigkeitswerten steht.

Auf Grund der von uns festgestellten Koinzidenz des Beginns des typischen Kurvenverlaufs etwa am 55. bis 60. Tag und dem parallel nachgewiesenen Konzentrationsanstieg der Hormone Testosteron, Östradiol und Prolaktin zu pubertalen Maximalwerten gonadaler Herkunft bzw. postpubertären, hohen Niveaus, möchten wir die anabole, extragenitale Wirkung dieser Hormone für die Diskrepanz beider Wachstumsparameter nach dem 55. Tag verantwortlich machen. Die im Blut weiblicher Ratten gegen Ende der Pubertät nachgewiesenen beachtlich hohen Testosteron-, Östradiol- und Prolaktin-Konzentrationen (DHEA ist nach dem 58. Alterstag nicht mehr nachweisbar) scheinen sowohl die Längenentwicklung durch den von ihnen verursachten Epiphysenfugenverschluß zu limitieren als auch durch ihren anabolen Effekt eine fortgesetzte Gewichtszunahme zu bewirken. Inwieweit bereits das Maximum der Gewichtswachstumsgeschwindigkeit zwischen dem 35. und 40. Tag kausal korreliert ist mit dem gleichzeitigen 1. Maximum der Hormonkonzentrationen von DHEA, Testosteron, Östradiol und Prolaktin vermögen wir nicht mit Gewißheit zu sagen, es muß aber vermutet werden, daß bereits zu diesem Zeitpunkt ein hormoneller Einfluß auf die Entwicklung von Länge und Gewicht besteht.

Literaturdurchsicht zeigt, daß dieser Bereich hormoneller Veränderungen vielfältig bei Mensch und Ratte untersucht wurde. Neben der klinisch-pathologischen Situation des Hypo- und Hypergonadismus, die durch hormonelle Dysregulation androgener Steroide vereint mit

sexuellen Entwicklungsstörungen bei Knaben auch starke Abweichungen vom normalen Wachstumsablauf verursachen, ist der experimentelle Nachweis einer Körpergewichtserhöhung durch Testosteron-Proprionat (TARTELLIN et al., 1975) und der GH-Sekretionsstimulation durch Testosterongabe für den Menschen (ILLIG und PRADER, 1970; MARTIN et al., 1968; RAITI et al., 1973; HORTHIG und WALFORS, 1959; MACGILLIVRAY et al., 1974; ROMSKE und SOTOS, 1980) und die männliche Ratte (BIRGE et al., 1967) geführt. Auch der Beziehung Östradiol-Körpergewicht bzw. Östradiol-Nahrungsaufnahme bei der weiblichen Ratte galten verschiedene Untersuchungen. Während COX und KING (1979) davon sprechen, daß ein gewichtsregulierender Einfluß des E_2 nicht besteht, belegen andere Studien eine Gewichtszunahme- und Nahrungsaufnahmereduktion bei Östradiolbenzoat-behandelten Tieren (SCHWARTZ und WADE, 1981; DUDLEY et al., 1973). Daß Längen- und Gewichtsunterschiede zwischen männlichen und weiblichen Ratten, wie wir sie im Vergleich unserer Werte mit denen der Arbeit von STÖTZLE (1982) ebenfalls belegen können, nicht nur auf den Östrogen-Einfluß zurückgeführt werden können, sondern von zusätzlichen Faktoren determiniert sind, weist eine Arbeit von PERRY et al., 1978; nach. Untersuchungen am Menschen zeigen, daß Östradiol über seinen direkten Einfluß hinaus in der Lage ist, die GH-Sekretion zu stimulieren (FRANTZ und RABKIN, 1965). Arbeiten über den unmittelbaren Einfluß des Prolaktin auf das Wachstum der Ratte sind uns nicht bekannt. Prolaktin vermag jedoch die Freisetzung von SLA (somatomedin-like activity) in der Rattenleber und damit möglicherweise auch eine Wachstumsbeschleunigung zu bewirken (HILL et al., 1977). Ob dieser Effekt wie der einer GH-Sekretionsstimulation beim Menschen durch die chemische Verwandtschaft von GH und Prolaktin zustande kommt, kann nur vermutet werden. Eine solche Hypothese liegt jedoch nahe, da in der Leber entsprechende Somatomedin-sezernierende Zellen vorhanden sind, die sowohl GH- als auch Prolaktin-Rezeptoren besitzen (RANKE et al., 1976).

Zusammenfassend läßt sich also sagen, daß die Hormone DHEA, Testosteron, Östradiol und Prolaktin in ihrem Plasmakonzentrationsspiegel während der Pubertät starke, adrenal wie gonadal verursachte Veränderungen erfahren. Über ihre im Rahmen dieser Arbeit nicht untersuchten sogn. genitalen Wirkungen hinaus besitzen sie einen deutlichen extragenitalen Einfluß auf das Wachstum der weiblichen Ratte, der sich im charakteristischen zeitlichen, qualitativ unterschiedlichen Verlauf von Körpergewicht und Nasen-Schwanz-Länge manifestiert.

5. Zusammenfassung

Ziel dieser Arbeit war es, ein Bild der körperlichen und sexuellen Entwicklung der weiblichen Albino-Wistar-Ratte zwischen ihren 15. und 90. Lebenstag an Hand der gleichzeitigen, querschnittlichen Erfassung der Werte für Körpergewicht, Nasen-Schwanz-Länge und die Konzentrationen der Hormone GH, Somatomedin, Insulin, Testosteron, DHEA, Östradiol und Prolaktin zu zeichnen.
Die gewonnenen Ergebnisse erlauben zusammenfassend folgende Aussagen:

- Wachstum ist ein komplexer, multifaktoriell geregelter bzw. beeinflußter Vorgang, der primär durch die Hormone GH und Somatomedin, synergistisch unterstützt durch Insulin, gesteuert wird.
- In diesen Wachstumsvorgang greifen bei der weiblichen Ratte die peripheren Hormone Testosteron und Östradiol modifizierend ein.
- Die vielfältige hormonelle Steuerung und Beeinflussung des körperlichen Wachstums findet ihren Niederschlag in einer quantitativ wie qualitativ verschiedenen Entwicklung der Wachstumsparameter Nasen-Schwanz-Länge und Gewicht.
- Auf Grund des Verlaufs dieser Parameter und der Konzentrationen von GH und Somatomedin kann gefolgert werden, daß beide Hormone, vergesellschaftet mit Insulin, bis zum 50. Tag das Wachstum dominant steuern.
- In diesen Entwicklungsabschnitt fällt der Beginn der Pubertät (s.u.), eingeleitet und sich im Wachstumsprozeß niederschlagend durch eine Phase raschester Somatomedinzunahme und größter Körpergewichtswachstumsgeschwindigkeit.
- Nach dem 50. Tag üben die Hormone Testosteron und Östradiol neben ihrer im Rahmen dieser Arbeit nicht untersuchten genitalen Wirkung einen deutlichen

extragenitalen Einfluß auf die Entwicklung von Körperlänge und -gewicht aus. Während ersterer allmählich durch Verknöcherung der Epiphysenfugen zum Stillstand kommt, bewirkt der anabole Effekt der genannten Hormone eine nochmalige verstärkte Gewichtszunahme.

- Die hormonelle Wirkung von Testosteron, Östradiol und Prolaktin korreliert mit ihrem Plasmakonzentrationsspiegel, was sich durch die Koinzidenz von Hormonverlauf und -wirkung belegen läßt.
- Die Plasmakonzentration zeigt einen typischen zeitlichen Verlauf für alle 4 Hormone, im Fall des DHEA, Testosteron und Östradiol sich durch einen einheitlichen Sekretionsmechanismus zweier getrennter, zeitlich versetzt tätiger Hormonquellen ergebend. Ein erster, präpubertaler Hormonanstieg kommt durch die Nebennierenrinden-, ein zweiter, pubertaler Gipfel bzw. der anschließende postpubertäre Verlauf durch die Gonadensekretion zustande.
- Die Kausalität der Prolaktin-Ausschüttung konnte im Rahmen dieser Arbeit nicht geklärt werden. Es muß jedoch vermutet werden, daß diese vom Blutöstradiolspiegel mitgeregelt wird, zu dem deutliche Parallelen vorhanden sind.
- Auf Grund der Konzentrationsverläufe von Testosteron, DHEA und Östradiol glauben wir, daß auch die weibliche Albino-Wistar-Ratte vor Beginn der Pubertät eine Adrenarche durchläuft. Der Beginn der Pubertät liegt zwischen dem 40. und 45. Tag, ihr Ende ist etwa mit dem 55. bis 60. Tag erreicht.

6. Tabellarischer Anhang

Tab.6: Längen- und Gewichtswerte

Alters-tag	Länge L n	x̄(cm)	s(cm)	ΔL(cm/d)	Gewicht G n	x̄(g)	s(g)	ΔG(g/d)
15	6	14,0	1,5		11	18,7	3,5	
17	5	15,5	0,8		10	22,6	3,8	
19	14	16,1	0,7		14	26,0	3,2	
20				0,58				2,03
21	12	16,9	0,9	0,53	14	27,7	3,5	2,13
22	13	17,5	1,2	0,48	14	33,2	6,5	1,98
23	13	18,8	0,9	0,54	19	31,6	5,7	2,27
24	10	18,7	0,5	0,63	14	36,9	5,8	2,95
25	10	19,8	0,8	0,60	14	39,0	3,9	2,91
26	14	19,6	1,0	0,57	14	42,0	7,9	2,88
27	13	20,3	0,9	0,53	17	42,4	5,9	2,43
28	14	21,2	1,2	0,44	14	47,1	7,4	2,74
29	15	22,4	1,2	0,47	15	55,5	9,3	2,84
30	15	21,8	1,7	0,47	15	51,4	11,4	3,48
31	15	22,6	1,1	0,54	15	56,5	7,1	3,65
32	14	22,8	0,6	0,55	15	57,5	4,9	4,12
33	15	23,2	1,0	0,53	15	62,5	5,3	4,16
34	15	24,0	0,8	0,46	15	65,3	3,8	3,75
35	14	24,5	0,8	0,52	14	73,8	4,9	4,07
36	13	25,5	0,6	0,47	13	78,5	5,3	4,02
37	13	25,8	1,0	0,51	13	89,8	3,5	4,03
38	13	26,5	0,8	0,53	13	88,7	4,8	4,20
39	14	27,0	0,6	0,47	14	93,0	4,8	4,14
40	12	27,7	0,9	0,45	12	96,7	8,3	3,52
41	12	27,3	1,0	0,41	33	96,7	5,6	3,55
42	12	27,9	0,6	0,40	12	97,8	5,2	3,22
43	10	28,5	0,5	0,36	10	104,5	6,5	2,90
44	10	28,7	0,9	0,34	10	104,1	7,6	2,70
45	10	29,0	0,9	0,31	10	109,0	7,0	2,53
46	8	29,6	0,6	0,38	8	114,0	4,2	2,85
47	8	29,8	0,7	0,37	8	113,5	4,3	2,89
48	7	30,1	0,9	0,34	7	117,7	3,5	2,46
49	7	30,1	0,9	0,34	7	120,9	4,5	2,48
50	7	30,8	0,5	0,33	7	113,4	4,9	2,42
51	6	31,1	0,6	0,29	6	125,2	4,2	2,08
52	6	31,6	0,7	0,28	6	126,7	7,6	2,01
53	6	31,9	0,7	0,27	6	126,3	3,4	2,14
54	5	31,7	0,8	0,25	5	131,6	6,7	1,83
55	4	31,8	1,2	0,23	4	138,5	7,5	2,08
56	6	31,6	1,5		6	118,8	2,4	
57	6	32,7	0,5		6	136,0	7,9	
58	5	32,7	0,8		15	139,1	4,7	
59	5	33,0	0,9		5	139,2	4,1	
60	5	33,1	0,4	0,15	5	142,8	7,7	1,48
65	5	33,8	0,3	0,13	5	148,0	5,1	1,22
70	5	34,4	0,5		5	155,0	4,6	
80				0,035				1,74
90	4	35,1	0,9		4	189,8	3,1	

Tab.7: Konzentrationswerte der Hormone GH, Somatomedin und Insulin und Werte der SM-Änderungsgeschwindigkeit

Alters-tag	n	GH (ng/ml)	SM (U/ml)	ΔSM (U/ml/d)	IRI (μU/ml)
15	25	5,6	0,377		10,0
17	20	5,2	0,446		12,5
19	20	6,0	0,504		17,0
20				0,0356	
21	20	6,6	0,609	0,0353	15,5
22	20	6,0	0,634	0,0351	12,5
23	19	5,6	0,674	0,0393	16,0
24	19	5,2	0,695	0,0403	18,0
25	20	17,5	0,733	0,0395	12,5
26	16	14,0	0,765	0,0407	13,0
27	17	7,0	0,797	0,0404	11,5
28	17	5,2	0,870	0,0415	17,0
29	15	5,2	0,911	0,0472	23,0
30	15	12,0	0,954	0,0430	21,0
31	15	31,0	1,016	0,0453	15,5
32	15	9,0	1,038	0,0492	13,5
33	15	7,4	1,089	0,0440	12,5
34	15	9,0	1,167	0,0439	19,0
35	14	6,0	1,163	0,0397	17,0
36	14	5,2	1,218	0,0375	18,0
37	13	9,4	1,289	0,0368	19,5
38	13	28,0	1,310	0,0357	17,5
39	14	16,0	1,350	0,0289	16,5
40	12	9,8	1,351	0,0304	12,5
41	12	21,5	1,391	0,0281	11,0
42	12	9,4	1,406	0,0219	26,0
43	11	12,5	1,446	0,0212	25,0
44	10	9,8	1,456	0,0176	15,5
45	10	9,0	1,467	0,0206	15,0
46	8	7,0	1,499	0,0183	32,0
47	8	10,0	1,508	0,0161	40,0
48	7	55,0	1,522	0,0135	44,0
49	7	48,0	1,526	0,0135	18,5
50	7	47,0	1,557	0,0126	38,0
51	6	55,0	1,574	0,0103	23,0
52	6	55,0	1,567	0,0102	48,0
53	6	56,0	1,581	0,0102	14,5
54	5	22,0	1,591	0,0130	28,5
55	4	17,5	1,593	0,0120	59,5
56	6	12,5	1,602		18,5
57	6	10,5	1,610		52,0
58	5	7,8	1,624		43,0
59	5	9,8	1,656		53,0
60	5	9,0	1,677	0,0079	32,0
65	5	9,0	1,672	-0,0027	22,0
70	5	38,0	1,650		25,5
80				-0,00105	
90	4	14,0	1,629		24,5

Tab.8: Konzentrationswerte der Hormone Dehydroepiandrosteron, Testosteron, Östradiol und Prolaktin

Alterstag	n	DHEA (ng/dl)	T (ng/dl)	Prl (ng/ml)	E_2 (pg/dl)
15	25	16,7	81,0	22,2	3,29
17	20	57,6	53,0	19,2	2,60
19	20	41,8	42,3	17,4	2,00
21	20	4,1	49,3	13,2	1,95
22	20	6,6	42,6	13,0	2,00
23	19	0,0	46,7	12,6	1,96
24	19	0,0	34,2	12,4	2,27
25	20	0,0	38,7	12,0	1,70
26	16	0,0	29,0	12,2	1,70
27	17	0,0	13,3	11,8	2,10
28	17	0,0	0,0	11,2	1,67
29	15	0,0	0,0	10,2	1,68
30	15	0,0	0,0	9,6	1,72
31	15	0,0	0,0	8,8	1,71
32	15	0,0	12,7	8,4	1,66
33	15	0,0	14,8	7,8	1,59
34	15	0,0	24,3	7,0	1,56
35	14	0,0	11,9	7,0	1,28
36	14	0,0	15,5	10,0	1,81
37	13	85,4	81,5	12,2	2,00
38	13	50,3	32,4	12,2	2,25
39	14	53,8	8,7	11,6	2,22
40	12	72,3	2,9	8,6	2,15
41	12	57,4	3,3	7,0	2,25
42	12	74,1	0,0	7,0	2,43
43	11	138,5	0,0	6,6	2,90
44	10	151,6	0,0	5,2	2,90
45	10	112,6	35,6	8,4	2,69
46	8	81,1	33,6	9,2	2,73
47	8	53,5	35,8	9,2	2,40
48	7	47,4	49,0	9,0	1,70
49	7	53,0	75,6	8,8	1,96
50	7	38,5	79,0	8,4	2,10
51	6	34,5	97,0	9,6	2,36
52	6	29,1	108,0	12,6	2,46
53	6	15,1	105,9	15,2	2,70
54	5	20,5	112,7	15,6	2,70
55	4	15,5	121,8	12,6	3,30
56	6	13,6	81,9	10,6	3,40
57	6	7,9	63,4	9,8	3,40
58	5	12,1	62,0	10,8	3,60
59	5	0,0	14,9	9,8	5,20
60	5	0,0	42,3	9,8	5,12
65	5	0,0	43,4	9,8	5,11
70	5	0,0	48,8	8,6	5,30
90	4	0,0	50,8	7,8	4,90

Tab.9: Zusammensetzung der Pufferlösungen

1.) Zusammensetzung des Freedlander-Puffers

Natriumphosphat-Stammpuffer (pH 7,5):		50 ml
bestehend aus:	$Na_2HPO_4 \times 2H_2O$	: 34,5 g
	$NaH_2PO_4 \times 2H_2O$	: 8,73 g
(Fa. Merck/Darmstadt, Best.-nr. 6580 bzw. 6345 p.a.)		
Natrium-Acid		: 0,25 g
(Fa. Merck/Darmstadt, Best.-nr. 6688 p.a.)		
Rinder-Albumin		: 1,25 g
(Behring ORHD 20/21)		
Aqua dest.		: 450 ml

2.) Zusammensetzung des Somatomedin-Puffers

Die Pufferlösung wurde kurz vor Gebrauch hergestellt.
Dazu wurden verwendet:

Stock-Puffer (bei 4°C gelagert)		: 20 ml
bestehend aus:	Tris	: 30,00 mMol/l
	NaCl	: 114,20 mMol/l
	KCl	: 4,60 mMol/l
	$MgSO_4 \times 7H_2O$	: 0,32 mMol/l
	$Na_2HPO_4 \times 2H_2O$	: 1,00 mMol/l
	$MgCl_2 \times 2H_2O$	: 1,00 mMol/l
	Glucose	: 17,00 mMol/l
Aminosäurelösung		: 20 ml
bestehend aus:	Cystin	: 12,00 mg/100 ml H_2O
	Methionin	: 4,45 mg/100 ml H_2O
	Phenylalanin	: 8,25 mg/100 ml H_2O
	Thyroxin	: 10,85 mg/100 ml H_2O
	Arginin	: 17,40 mg/100 ml H_2O
	Lysin	: 29,25 mg/100 ml H_2O
	Histidin	: 12,40 mg/100 ml H_2O
	Tryptophan	: 10,20 mg/100 ml H_2O
	Isoleucin	: 9.20 mg/100 ml H_2O
	Leucin	: 17,05 mg/100 ml H_2O
	Threonin	: 14,25 mg/100 ml H_2O

	Valin	: 29,30 mg/100 ml H_2O
	Glutamin	: 83,35 mg/100 ml H_2O
	Serin	: 11,55 mg/100 ml H_2O
	Glycin	: 15,75 mg/100 ml H_2O
Antibiotikalösung		: 1 ml
bestehend aus:	Penicillin K	: 10 000 E/ml
	Streptomycin	: 10 ng/ml (Hoechst)
	Kanamycin	: 20 ng/ml (Grünenthal)
	Nystatin	: 4 000 E/ml
Aqua dest.		: 159 ml

3.) Zusammensetzung der Dextran-Kohle

Laut Firmenangabe der Fa. Wien Laboratories:

Charcoal	: 2,50 %-ig
Dextran T 70	: 0,25 %-ig

in Phosphat-Puffer (0,01 M, pH 7,4)

Tab.10: Abkürzungen

Neben den international gebräuchlichen Einheiten und Abkürzungen wurden von uns folgende Kürzel und Zeichen verwendet:

Abb.	Abbildung
AK	Antikörper
B_x	gebundener Anteil
B_o	Nullbindung (Bindung des 0-Standards)
DHEA	Dehydroepiandrosteron
E bzw. U	Einheit
E_2	Östradiol
FSH	Follikel-stimulierendes Hormon (Follitropin)
G bzw. ΔG	Gewicht bzw. Gewichtswachstumsgeschwindigkeit
GH	Growth hormone, Wachstumshormon
h	human-, humanes
hCG	humanes Chorionogonadotropin
IRI	immunoreaktives Insulin
n	Probenanzahl bzw. Anzahl der untersuchten Tiere
NSL bzw. ΔL	Nasen-Schwanz-Länge bzw. Längenwachstumsgeschwindigkeit
LH	Lutenisierendes Hormon (Lutotropin)
MEZ	Mitteleuropäische Zeit
PEG	Polyäthylenglykol
Prl	Prolaktin
RIA	Radioimmunoassay
r	rat-, Ratten-
s	Standardabweichung
SM bzw. ΔSM	Somatomedin bzw. Somatomedinänderungsgeschwindigkeit
T	Testosteron
TSH	Thyroidea-stimulierendes Hormon (Thyrotropin)
U bzw. NSB	Unspezifische Bindung
Upm	Umdrehungen pro Minute
WHO	World Health Organisation
$\bar{x}$	Durchschnittswert

7. Literaturverzeichnis

ALMQUIST, S. und I. RUNE:
Studies on sulfation factor (SF) activity of human serum.
Acta endocr. (Kbh.) 36: 566-576 (1961)

BIRGE, C.A., G.T.PEAKE, I.K.MARIZ, W.H. DAUGHADAY:
Radioimmunoassayable growth hormone in rat pituitary gland: Effect of age sex and hormonal states.
Endocrinology 81: 195-204 (1967)

BIRBECK, J.A.:
Growth in juvenile diabetes mellitus.
Diabetologia 8: 221-224 (1972)

BLAZQUEZ, E., F.A. SIMON, M. BLAZQUEZ und P.P. FOA:
Changes in serum growth hormone levels from foetal to adult age in the rat.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 147: 780 (1974)

BREITNER, R.:
Einfluß von Somatostatin auf das Wachstum und das Wachstum beeinflussende Hormone bei männlichen Ratten.
Dissertation, Tübingen 1981: Im Druck

CAVALLI-SFORZA, L.:
Grundbegriffe der Biometrie, insbesondere der statistischen Methoden bei der Wertbemessung biologisch wirksamer Substanzen.
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart (1964)

CHEN, J.C., E.M.ZORN, M.C.HALLBERG und R.G. WIELAND:
Antibodies to testosterone-3-bovine serum albumin, applied to assay of serum 17ß-ol androgens.
Clin. Chem. 17: 581-584 (1971)

COX, V.C. und J.M.KING:
The relationsship between body weight and estradiol-induced activity.
Physiology and Behavior 24: 657-659 (1979)

CUTLER, G.B.jr., M.GLENN, M.BUSH, G.D.HODGEN, C.E. GRAHAM und D.L.LORIAUX:
Adrenarche: A survey of rodents, domestic animals, and primates.
Endocrinology 103: 2112-2118 (1978)

DAUGHADAY, W.H., W.D. SALMON und F.ALEXANDER:
Sulfation factor activity of sera from patients with pituitary disorders.
J. Clin. Endocr. Metab. 19: 743-758 (1959)

DAUGHADAY, W.H. und J.K.MARIZ:
Conversation of proline-U-^{14}C to labelles hydroxyproline by rat cartilage in vitro.
J. Lab. Clin. Med. 59: 741-752 (µ962)

DAUGHADAY, W.H., L.S.PHILLIPS und M.C.MUELLER:
The effects of insulin and growth hormone on the release of somatomedin by the isolated rat liver.
Endocrinology 98: 1214-1219 (1976)

De JONG, F.H. und R.M.SHARPE:
The onset and establishment of spermatogenesis in rats in relation to gonadotropin and testosteron levels.
J. Endocr. 75: 197-207 (1977)

DESBUQUOIS, B. und G.D.AURBACH:
Use of polyethylene glycol to separate free and antibody-bound peptide hormones in RIA.
J. Clin. Endocr. Metab. 33: 732-738 (1971)

DICKERMAN. E., S.DICKERMAN und J.MEITES:
Influence of age, sex and oestrus cycle on pituitary and plasma growth hormone levels in rats.
In: Growth hormone (A.Pecile, E.E.Müller, eds.) Excerpta Medica, Amsterdam, pp 252 (1972)

DÖHLER, K.D. und W.WUTTKE:
Serum LH, FSH, prolactin and progesterone from birth to puberty in female and male rats.
Endocrinology 94: 1003 (1974)

DÖHLER, K.D. und W.WUTTKE:
Changes with age in levels of serum gonadotropins, prolactin, and gonadal steroids in prepubertal male and female rats.
Endocrinology 97: 898-907 (1975)

DUCHARME, J.R., M.G.FOREST, E.de PERETTI, M.SEMPE, R.COLLU und J.BERTRAND:
Plasma adrenal and gonadal sex steroids in human pubertal development.
J. Clin. Endocr. Metab. 42: 468-476 (1976)

DUDLEY, S.D., R.T.GENTRY, B.S.SILVERMAN und G.N.WADE:
Estradiol and insulin: Independent effects on eating and body weight in rats.
Physiology and Behavior 22: 63-67 (1978)

DUNN, J.D., W.J.SCHINDLER, M.D.HUTCHINS, L.E.SCHEVING und C.TURPEN:
Daily variation in rat growth hormone concentration and the effect of stress on periodicity.
Neuroendocr. 13: 69-78 (1973)

FAIMAN, C. und J.S.D.WINTER:
Gonadotropins and sex hormone patterns in puberty: Clinical data.
In: Controll of the onset of puberty (M.M. Grumbach, G.D.Grave und F.E.Mayer, eds.), Wiley, New York, pp 32-61 (1974)

FINKELSTEIN, J.W., H.P.ROFFWARG, R.M.BOYAR, J.KREAM und L.HELLMAN:
Age-related change in the twenty-four hour spontaneous secretion of growth hormone.
J. Clin. Endocr. Metab. 35: 665-670 (1972)

FRAMLEY, L.S. und D.M.HENRICKS:
Mode of gonadotropin secretion in infantile female rats and the role of estrogen in feedback regulation.
Endocrinology 105: 1064-1072 (1979)

FRANTZ, A.C. und M.T.RABKIN:
Effect of estrogen and sex difference on secretion of hGH
J. Clin. Endocr. Metab. 25: 1470 (1965)

GROTA, L.J.:
Effects of age and experience on plasma testosterone.
Neuroendocrinology 8: 136-143 (1971)

GUPTA, D., K.RAGER, M.EICHNER, K.ZECH, S.FUCHS und W.VOELTER:
Pituitary gonadotropins and androgen release induced by a synthetic tetrapeptide in male prepubertal and adult rats.
J. Endocr. 64: 391 (1975 a)

GUPTA, D., K.RAGER, A.ATTANASIO, W.KLEMM, M.EICHNER:
Sex steroid hormones during multiphase pubertal development.
J. Steroid Biochem. 6: 859-868 (1975 b)

GUPTA, D., K.RAGER, J.ZARZYCKI und M. EICHNER:
Levels of luteinizing hormone, follicel-stimulating hormone, testosterone and dihydrotestosterone in the circulation of sexually maturing intact male rats and after orchidectomy and experimental bilateral cryptorchidism.
J. Endocr. 66: 183-193 (1975 c)

GUPTA, D., K.RAGER, K.ZECH und W. VOELTER:
Hypothalamic-pituitary-testicular feed-back mechanism during mammalian sexual maturation. In: Hypothalamic hormones-structure, synthesis and biological activity (D.Gupta, W. Voelter, eds.) Verlag Chemie, Weinheim, pp 179-206 (1975 d)

HACIK, T.: Endogenous production of ovarian estradiol-17ß and its plasma levels in young rats. Endocrinology 71: 35-39 (1978)

HILDEBRANDT, P.H.:
Wachstum und wachstumsbeeinflussende Hormone bei männlichen Ratten.
Dissertation, Tübingen 1981: Im Druck

HALES, C.N., P.J.RANDLE:
Immunoassay of insulin with insulin-antibody precipitata.
Biochem. J. 88: 137 (1963)

HILL, D.J., M.J.O.FRANCIS und R.D.G.MILNER:
Actions of rat prolactin on plasma somatomedin levels in the rat and on somatomedin release from perfused rat liver.
J. Endocr. 75: 137-143 (1977)

HOPPER, B.R. und S.S.C. YEN:
Circulating concentrations of dehydroepiandrosterone and dehydroepiandrosterone sulfat during puberty.
J. Clin. Endocr. Metab. 40: 458-461 (1975)

HORTHIG, H. und K. WALFORS:
Long-term treatment of dwarfism with androgens and thyroid hormone.
Acta endocr. (Kbh.) 32: 563 (1959)

ILLIG, R. und A.PRADER:
Effect of testosterone on growth hormone secretion in patients with anorchia and delayed puberty.
J. Clin. Endocr. 30: 615 (1970)

KANTERO, R.L., L.WIDE und O.WIDHOLM:
Serum growth hormone and gonadotropins and urinary steroids in adolescent girls.
Acta endocr. (Kbh.) 78: 11-21 (1975)

KELLER, E., E.FRIEDRICH und A.E.SCHINDLER:
Endokrinologie des Ovars.
In: Hormone im Kindesalter (D.Gupta, ed.)
Schattauer Verlag, Stuttgart, pp 158-166 (1980)

KOSTYO, J.L. und O.ISAKSSON:
Growth hormone and the regulation of somatic growth.
Int. Rev. Physiol. 13: 255-274 (1977)

KORTH-SCHUTZ, S., L.S.LEVINE und M.I.NEW:
Serum androgens in normal prepubertal children and in children with precocious adrenarche.
J. Clin. Endocr. Metab. 42: 117-124 (1976)

KULIN, H.E., M.M.GRUMBACH und S.L.KAPLAN:
Gonadal-hypothalamic interaction in prepubertal and pubertal man. Effect of Clomiphene Citrate on urinary FSH and LH and plasma testosteron.
Pediat. Res. 6: 162 (1972)

LEE, V.W.K., D.M. de KRETSER, B.HUDSON und C.WANG:
Variations in serum FSH, LH and testosterone levels in male rats from birth to sexual maturity.
J. Reprod. Fert. 42: 121-126 (1975 a)

LEE, P.A. und C.J.MIGEON:
Puberty in boys:Correllation of plasma levels of gonadotropins (LH, FSH), androgens (testosteron, androstenedione, dehydroepiandrosterone and its sulfate), estrogens (estrone and estradiol) and progestins (progesterone and 17-∝ Hydroxyprogesterone).
J. Clin. Endocr. Metab. 41: 556-562 (1975 b)

MAC GILLIVRAY, M., M.KOLOTHIN und R.MUNSCHAUER:
Enphanced linear growth responses in hypopituitary dwarfs treated with growth hormone androgens versus growth hormone alone.
Pediat. Res. 8: 103 (1974)

MARTIN, L.G., J.W.CLARK und T.B.CONNOR:
Growth hormone secretion enphanced by androgens.
J. Clin. Endocr. 28: 425 (1968)

MIYACHI, Y., E.NIESCHLAG und M.B.LIPSETT:
The secretion of gonadotropins and testosterone by neonatal male rats.
Endocrinology 92: 1-5 (1973)

NICOLL, C.S. und H.A.BERN:
In: Lactogenic hormones (G.E.W.Wolstenholme, J.Knight, eds.), Churchill-Livingstone, Edinburgh, pp 299 (1972)

ODELL, W.D., R.S.SWERDLOFF, J.BAIN, F.WOLLESEN und P.K.GROVER:
The effect of sexual maturation on testicular response to LH stimulation of testosterone secretion in the intact rat.
Endocrinology 95: 1380-1384 (1974)

ODELL, W.D., G.T.ROSS und P.L.RAYFORD:
Radioimmunoassay of LH in human plasma serum. Physiological studies.
J. Clin. Investig. 46: 248 (1967)

NEGRO-VILLAR, A., L.KRULLICH und S.M.McCANN:
Changes in serum prolactin and gonadotropins during sexual development of the male rat.
Endocrinology 93: 660-664 (1973)

PARLOW, A.F.:
Human pituitary growth hormone, adrenocorticotropic hormone, follicle stimulating hormone, and luteinizing hormone concentrations in relation to age and sex, as revealed by biological assays.
In: Advances in growth hormone research (S.Raiti, ed.), DHEW Publication No. 74-612, p 658 (1973)

PERRY, B.N., A.McCRACKEN, B.J.A.FURR und H.J.J.McFIE:
Separate roles of androgen and estrogen in the manipulation of growth and efficiency of food utilization in female rats.
J. Endocr. 81: 35-48 (1978)

PHILLIPS, L.S., A.C.HERINGTON und W.H.DAUGHADAY:
Somatomedin stimulation of sulfate incorporation in porcine costal cartilage discs.
Endocrinology 94: 856-863 (1974)

PHILLIPS, L.S. und H.S.YOUNG:
Nutrition and somatomedin: Effect of fasting and refeeding on serum somatomedin activity and cartilage growth activity in rats.
Endocrinology 99: 304-314 (1976 a)

PHILLIPS, L.S. und H.S.YOUNG:
Nutrition and somatomedin: Serum somatomedin activity and cartilage growth activity in streptozotozin-diabetic rats.
Diabetes 25: 516-527 (1976 b)

PHILLIPS, L.S. und A.T.ORAWSKI:
Nutrition and somatomedin: Diabetic control, somatomedin and growth in rats.
Diabetes 26: 864-869 (1977)

POND, H.: Some aspects of growth in diabetic children. Postgrad. Med. J. (Suppl.) 46: 616-623 (1970)

RAITI, S., E.TRIAS, C.LEVITSKY und M.S.GROSSMAN: Oxandrole and human growth hormone. Am. J. Dis. Child. 128: 597 (1973)

RANKE, M.B., C.A.STANLEY, D.RODBARD, L.BAKER, A.M. BONGIOVANNI und J.PARKS: Sex differences in binding of human growth hormone to isolated rat hepatocytes. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 73: 847 (1976)

RANKE, M.B., R.BREITNER, P.HILDEBRAND, C.RUDOLPH, D.GUPTA: Effects of long-term treatment with somatostatin (SRIF) on growth and various circulating hormones in the male rat. Neuroendocr. lett. 3 No. 4 (1981)

REITER, E.O., V.G.FULDAUER und A.W.ROOT: Secretion of the adrenal androgen, dehydroepiandrosterone sulfate, during normal infancy, childhood, and adolescence, in sick infants, and in children with endocrinologic abnormalities. J. Pediatr. 90: 766-770 (1977)

RESKO, J.A., H.H.FEEDER und R.W.GOY: Androgen concentrations in plasma and testis of developing rats. J. Endocr. 40: 485-491 (1968)

RODBARD, D., H.J.RUDER, J.VAITUKAITIS und H.S.JACOBS: Mathematical analysis of kinetics of radioligand assays: improved sensitivity obtained by delayed addition of labeled ligand. J. Clin. Endocr. 33: 343-355 (1971)

ROMSKE, C.A. und J.F.SOTOS: The combined effect of growth hormone and oxandrolone in patients with GH-deficiency. J. Pediatrics 96: 127 (1980)

RUDOLPH, C.:
Einfluß von Cyproteronacetat auf Wachstum und das Wachstum beeinflussende Hormone männlicher Ratten während der Entwicklung.
Dissertation, Tübingen 1981: Im Druck

SALTER, J. und C.H.BEST:
Insulin as a growth hormone.
Br. Med. J. 2: 353-356 (1953)

SCHWARTZ, S.M. und G.N.WADE:
Effects of estradiol and progesterone on food intake, body weight, and carcass adiposity in weanlings rats.
Am. J. Phys. 240: 499-503 (1981)

SIZONENKO, P.C. und L.PAUNIER:
Hormonal changes in puberty: Correlation of plasma dehydroepiandrosterone, testosterone, FSH and LH with stages of puberty and bone age in normal boys and girls and in patients with Addison's disease or hypogonadism or premature or late adrenarche.
J. Clin. Endocr. Metab. 41: 894-904 (1975)

SMITH, E.R., D.A.DAMASSA und J.J.M.DAVIDSON:
Feedback regulation and male puberty: Testosterone-lutenizing hormone relationsship in the developing rat.
Endocrinology 101: 173-180 (1977)

STROSSER, M.T. und P.MIAHLE:
Growth hormone secretion in the rat as a function of age.
Horm. Metab. Res. 7: 275 (1975)

STUART, M.C., L.LAZARUS, S.S.MOORE und G.A.SMYTHE:
Somatomedin production in the neonatal rat.
Horm. Metab. Res. 8: 442-445 (1976)

STÖTZLE, H.:
Periphere Hormone und ihre Beziehung zum Wachstum bei der männlichen Ratte - eine querschnittliche Studie.
Dissertation, Tübingen 1982, Im Druck

SWERDLOFF, R.S., P.C.WALSH, H.S.JACOBS und W.D.ODELL:
Serum LH and FSH during sexual maturation in the male rat: Effect of castration and cryptorchidism.
Endocrinology 88: 120-128 (1971)

TARTELLIN, M.F., J.E.SHRYNE und R.A.GORSKI:
Patterns of body weight change in rats following neonatal hormone manipulation.
Acta endocr. 79: 177-191 (1975)

TATO, L., M.V.L. Du CAJU, C.PREVOT und R.RAPPAPORT:
Early variations of plasma somatomedin activity in the newborn.
J. Clin. Endocr. Metab. 40: 534-536 (1975)

VAN DEN BRANDE, J.L. und M.V.L. Du CAJU:
An improved technique for measuring somatomedin activity in vitro.
Acta endocr. (Kbh.) 75: 223-242 (1974)

VAN DER WERFF TEN BOSCH, J.J.:
In: Endocrine and genetic deseases of childhood (L. Gardner, ed.) W.B.Saunders Comp., London (1969)

YAMAMOTO, K., L.M.TAYLOR und F.E.COLE:
Synthesis and release of GH and prolactin from the rat anterior pituitary in vitro as function of age and sex.
Endocrinology 87: 21 (1970)

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Privat-Dozent Dr. M. Ranke für die Überlassung des Themas, die ständige Gesprächsbereitschaft und hilfreiche Betreuung der Arbeit.
Ebenso zu Dank verpflichtet bin ich den Mitarbeiterinnen des Hormonlabors für ihre vielfältige Unterstützung bei der Durchführung der Experimente.
Herrn H. Stützle habe ich zu danken für viele fruchtbare Anregungen und freundschaftliche Kritik.

LEBENSLAUF

Am 22. Oktober 1957 wurde ich, Hans-Joachim Kleber, als Sohn des Arztes Wolfgang Kleber und seiner Frau Gertrud, geb. Reisser, in Eisleben/DDR geboren.

Daselbst wurde ich am 1. September 1964 in die Max-Lademann-Oberschule eingeschult. Von 1966 bis 1973 besuchte ich anschließend die John-Schehr-Oberschule. Von dieser wechselte ich 1973 nochmals auf die Max-Lademann-Oberschule über. Am 14. Juni 1973 erfolgte zusammen mit meiner Mutter die Übersiedelung in die Bundesrepublik Deutschland. Hier setzte ich am Otto-Hahn-Gymnasium in Böblingen meine Schulausbildung fort, wo ich am 5. Mai 1977 mir das Zeugnis der Reife erwarb.

Zum Wintersemester 1977/78 immatrikulierte ich mich an der Universität Tübingen im Studiengang Zahnmedizin. Am 3. Oktober 1978 bestand ich das Vorphysikum, am 14. März 1980 das Physikum und am 15. Dezember 1982 das zahnärztliche Staatsexamen.